

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(O)

가축질병대응기술개발사업 2019년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003179-01

발생농장(분변, 사료, 기구, 축사 등)에 남아 있는 구제역, AI 바이러스의 효과적인 제거 기술 개발

2020. 07. 17.

주관연구기관 / 건국대학교 산학협력단
협동연구기관 / 체리부로

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “발생농장(분변, 사료, 기구, 축사 등)에 남아 있는 AI 바이러스의 효과적인 제거 기술 개발”(개발기간 : 2018. 04. 01. ~ 2019. 12. 31.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2020. 2. 15.

주관연구기관명 : 건국대학교 산학협력단 (대표자)
협동연구기관명 : (주) 체리부로 (대표자)
참여기관명 : (주) 카브 (대표자)
참여기관명 : 한양대학교 산학협력단 (대표자)



주관연구책임자 : 최인수
협동연구책임자 : 김병운
참여기관책임자 : 윤하나
참여기관책임자 : 강영종

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	318044-2	해 당 단 계 연 구 기 간	2019.01.01.- 2019.12.31	단 계 구 분	2차년도
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	가축질병대응기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세 부 과 제 명	발생농장(분변, 사료, 기구, 축사 등)에 남아 있는 구제역, AI 바이러스의 효과적인 제거 기술 개발			
연구책임자	최 인 수	해당단계 참여연구원 수	총: 18명 내부: 18명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 200,000천원 민간: 133,334천원 계: 333,334천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 22명 내부: 22명 외부: 명	총 연구개발 비	정부: 350,000천원 민간: 233,334천원 계: 583,334천원
연구기관명 및 소속부서명	건국대학교 산학협력단 (주) 체리부로 (주) 카브 한양대학교 산학협력단			참여기업명 (주) 체리부로 (주) 카브	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명: (주) 카브 한양대학교 산학협력단			연구책임자: 윤하나 강영중	
※ 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

바이러스 제거기술 및 제거 확인기술을 개발 및 상용화하였고 발생농장 재입식 매뉴얼을 제작하여 해당 매뉴얼의 평가를 진행함.

보고서 면수

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p><최종목표> AI 발생 농장에서 살처분 이후 가축을 재입식시키기 위해 농장에 남아있는 바이러스를 효과적으로 제거하고 바이러스 제거 여부를 확인할 수 있는 기술 개발</p> <p><세부 목표> ○ AI 발생농장에 남아있는 바이러스 제거기술 개발 - 바이러스 제거기술 효능평가 및 상용화 - 실험실 내 환경 및 농장에 적용 ○ 재입식 결정을 위한 바이러스 제거 여부 확인 기술 개발 - 바이러스 제거 확인 기술의 효능평가 및 상용화 - 실험실 내 환경 및 농장에 적용 ○ 재입식 결정을 위한 바이러스 제거 기술 매뉴얼 개발</p>				
<p>연구개발성과</p>	<p>○바이러스 제거기술 개발 - 내동결성 소독제 - 발생농가 세척 및 소독, 바이러스 제거기술 관련 매뉴얼 ○바이러스 제거 확인 기술 개발 - 바이러스 제거 확인 기술의 성능 검증 및 상용화 - 분변 색전이 센서를 통한 분변 제거 확인 기술 개발 ○재입식 관련 매뉴얼 개발 - 기존 보다 더 체계화된 재입식 매뉴얼을 개발하여 실제 농장에 적용 및 정책건의를 통한 실용화 제안</p>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>○본 과제를 통해 개발된 재입식 관련 매뉴얼을 통해 세척 및 소독과정에 대한 검증을 체계화 하여 높은 수준의 방역 프로토콜을 제시함. ○본 연구과제를 통해 개발된 내동결성 소독제를 사용하여 AI바이러스가 빈발하는 한 겨울철에도 소독효능을 유지할 수 있는 소독제를 상용화 할 예정이다. ○본 연구과제를 통하여 현장적용 바이러스 제거기술 확인기술을 상업화 하였으며 해당 상용화 기술을 통하여 조류인플루엔자 뿐만이 아닌 다른 발생 질병에 대한 적용도 가능할 것으로 기대 됨. ○ AI 바이러스에 효과적인 제거 방법 및 제거확인 기술을 적용한 매뉴얼을 농장 내 도입하여 AI 및 전파 예방 및 농가 내 재발생 방지에 기여할 수 있을 것으로 판단됨.</p>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>조류인플루엔자</p>	<p>바이러스 제거</p>	<p>소독</p>	<p>재입식</p>	<p>색전이 센서</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Avian influenza</p>	<p>Virus removal</p>	<p>Disinfection</p>	<p>Restocking</p>	<p>Colour- change sensor</p>

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	6
2. 연구수행 내용 및 결과	13
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	117
4. 연구결과의 활용 계획 등	120
붙임. 참고 문헌	121

제 1 장. 연구개발과제의 개요

제 1절. 연구개발 목적

구분	내용
<p>최종목표</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ AI 발생 농장에 남아있는 바이러스 제거기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> -세척제 및 소독제 효력 in vitro 실험 -내동결성 소독제 효력 in vitro 실험 ○ 재입식 결정을 위한 바이러스 제거 여부 확인 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> -세척여부 확인을 위한 색전이 센서 개발 -실험실 내 바이러스 제거여부 확인 시험 -실제 농장에서의 바이러스 제거여부 확인시험 <ul style="list-style-type: none"> (1) 농장 내 세척여부 확인시험 (2) 농장 내 바이러스 제거여부 확인 시험 ○ 재입식 결정을 위한 바이러스 제거 기술 매뉴얼 개발 <ul style="list-style-type: none"> -AI 발생농장에 남아있는 바이러스 제거 방법 및 제거 여부 판별 방법 매뉴얼화 -농가에 매뉴얼 적용 및 피드백 ○ 바이러스 제거기술의 제품화 <ul style="list-style-type: none"> -소독 효능을 가진 세척제 및 내동결성 소독제 제품화
<p>세부목표</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 주관: 건국대학교 <ul style="list-style-type: none"> ○ 세척제의 인플루엔자 제거 효력 in vitro 실험 <ul style="list-style-type: none"> - 친환경 세척제의 인플루엔자에 대한 소독 효과 확인 ○ 실험실 내 사육환경에서 바이러스의 제거 기술 및 제거여부 확인 <ul style="list-style-type: none"> - POCKIT을 이용하여 실험실 내 동물사육시설에서 바이러스 제거여부 확인 2. 위탁: (주)카브 <ul style="list-style-type: none"> ○ 내동결성 소독제 효력 in vitro 실험 <ul style="list-style-type: none"> - 소독제용 부동액(4-ever winter)과 소독제 원료별 혼합능 확인 - 내동결성 소독제 제작을 위한 소독제와 부동액 희석 배율 설정 - 내동결성 소독제의 효능 시험 - 내동결성 소독제의 등록을 위한 각종 세균 및 바이러스에 대한 효능 확인 및 소독 희석 배수 설정

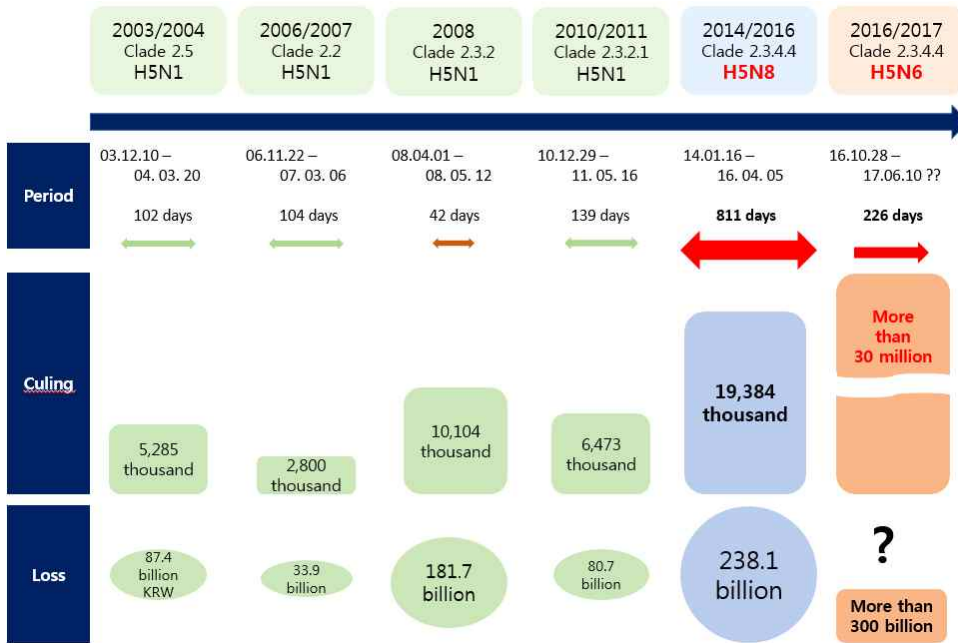
	<p style="text-align: center;">- 소독제 제품화</p> <p>3. 협동: 체리부로</p> <ul style="list-style-type: none"> ○농장 내 세척 여부 확인 시험 <ul style="list-style-type: none"> - 한양대의 색전이 센서 기술을 이용하여서 농장 내 기기류 및 사육시설에 대한 세척 여부 확인 ○농장 내 바이러스 제거 여부확인 시험 <ul style="list-style-type: none"> - POCKIT DUO 기술을 보유한 (주)카브에 시험분석의뢰를 하여 바이러스 제거 여부 확인 ○농장 내 바이러스 제거, 제거여부 확인 및 재입식 매뉴얼 적용 <ul style="list-style-type: none"> - 해외 우수 농가의 재입식 매뉴얼 조사 - 국내 농가의 재입식 매뉴얼에 대한 문제점 제기 - AI 발생농장에 남아있는 바이러스 제거 방법 및 제거 여부 판별 방법 매뉴얼화 -농가에 매뉴얼 적용 및 피드백 <p>4. 위탁: 한양대학교</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 세척여부 확인을 위한 색전이 센서 개발 ○ 세척여부 확인을 위한 색전이 센서의 적용
--	--

제 2절. 연구개발의 필요성

1. 국내 고병원성 조류인플루엔자의 발생

가. 국내 고병원성 인플루엔자는 2003년부터 발생하기 시작하여 현재 까지 7차례 발생하였고 발생이 거듭됨에 따라 그 피해도 커지는 상황임.

나. 2016년/2017년 시즌에는 국내 사상 초유의 고병원성 조류인플루엔자가 발생함에 따라 3000 억원대의 피해가 발생함.



<그림. 연간 고병원성 조류 인플루엔자의 발생상황>

다. 고병원성 조류인플루엔자는 중국 재래시장에서 유래하여 철새를 통해 국내로 전파가 되고 차단방역 시설이 취약한 육용오리, 종오리 농가에 가장 먼저 발생을 하며, 소규모 산란계 농장에서 대규모 산란계 농장으로 퍼지는 양상을 보임.



<그림. 고병원성 조류인플루엔자의 발생 연쇄고리>

2. 국내 고병원성 조류인플루엔자 살처분 현황

가. 국내 고병원성 AI 발생시 조류인플루엔자 긴급행동 지침에 따라 발생농장에 대한 살처분을 실시하고 해당 지역의 축산업 형태, 지형적 여건, 야생조류 서식실태, 계절적 요인 또는 역학적 특성 등 위험도를 감안하여 시·도관계관, 시·군 관계관 등과 살처분 또는 폐기 여부를 결정하여 이를 시행함.

나. 고병원성 조류인플루엔자 관련 보고서에 따르면 2016년 11월 16일 ~ 2017년 2월 22일
까지의 기간 중 343개의 농장에서 고병원성 조류인플루엔자가 발생하였고 살처분이 시행된
농장은 예방적 살처분 농가를 포함하여 826개 농장, 총 살처분 두 수는 3,320만 수에 달함.

다. 발생 농가 및 발생 농가 주변 농가에 대한 살처분 진행 시 투입되는 인력의 하루 최대
살처분 가능 두 수는 약 10만 두 정도이고 살처분 두 수가 이를 초과할 경우 살처분 일정이
지연됨. 살처분 일정의 지연에 따라 발생농가로의 반복 출입이 증가하고 조류인플루엔자의
전파 위험 또한 증가함. 따라서 발생농가 내의 효과적인 바이러스 제거 기술에 대한 개발이
시급함.

3. 국내 고병원성 조류인플루엔자 발생 시 긴급 행동 지침

가. 조류인플루엔자 긴급행동지침에 따르면 발생농장 H5 및 H7 항체 양성판정 농장,
환경검사에서 양성으로 판정된 농장의 분뇨는 매몰 하고, 축사 내·외부를 21일간 1주 간격으로
3회 이상 소독을 실시함. 위 농장들 중 분뇨의 매몰처리가 어려운 경우에는 각 축사별로
내부에 분변을 한곳에 모아 생석회 또는 검역본부가 인정한 유효 소독약을 충분히 도포되도록
하여 보관하고, 당일 축사 내부·외부를 철저히 소독한 후 21일간 1주 간격으로 3회 이상
소독을 실시함.



<그림. 가축 분변의 밀폐·보관 예시>

발생농장의 살처분 대상동물에 대한 살처분이 완료된 날부터 30일이 지난 후 분변검사를
실시하여 이상이 없는 경우 매몰 또는 발효처리 등의 방법으로 안전하게 처리함.

4. 국내 고병원성 조류 인플루엔자 긴급 행동지침의 한계

가. 조류인플루엔자 긴급행동지침에서의 매뉴얼과는 달리 유기물(분변)의 존재 하에서는
소독제의 효능이 거의 없는 것으로 알려져 있음. (David D. Frame et al., Disinfectants
Against Avian Influenza Viruses)

나. 해외 연구에 따르면 분변의 In-house composting(실내 퇴비화)으로 외부로 오염된 분변을
노출 시킬 필요가 없으며, 춥거나 비가 오는 날씨로부터 퇴비를 보호할 수 있고 적절히
퇴비화가 진행된 퇴비는 퇴비화 시작 후 10일 이내에 50℃~70℃ 온도에 도달하여 고병원성

인플루엔자가 10일 이후에 불활화가 되는 것을 확인함. (Darrell W. Trampel et al., Odor and Nutrient Management., 2006.)

다. 현재 조류인플루엔자 긴급행동지침 및 조류인플루엔자 방역실시요령의 조항에는 소독 및 세척과 관련된 구체화된 매뉴얼이 존재하지 않음. 따라서 바이러스 제거 방법 및 제거 여부 판별 방법 및 재입식에 대한 구체적인 매뉴얼화가 필요한 실정임.

제 3절. 연구개발 범위

※구제역 바이러스 실험 제외에 대한 의견
본 과제 RFP 상에 구성되어있었던 구제역 바이러스에 대한 내용의 경우 구제역 바이러스의 경우 실험 가능한 기관이 전부 해외에 있어 과제 구성에 포함되기 어려움. 따라서 과제 계획 시, 평가 시에 구제역 바이러스에 대한 내용은 제외하고 실험 계획을 수립하였음.

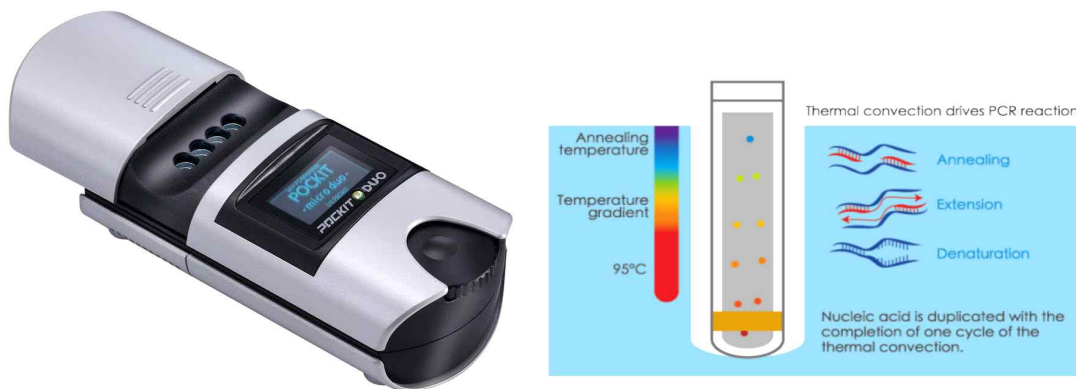
1. 주관연구기관(건국대학교)

▷ 실험실 내 사육환경에서 바이러스의 제거 기술 및 제거여부 확인

- 실험실 내 isolator 사육환경에서 SPF 닭에 바이러스를 감염, 사육 후 케이지 내 청소 시 쉰 환경 세척제와 내동결성 소독제인 동장군를 함께 사용한 바이러스 제거기술을 적용 후, POCKIT을 이용하여 실험실 내 동물사육시설에서 바이러스 제거여부 확인.

-(주)카브 보유기술인 Taco mini RNA extraction machine과 insulated isothermal polymerase chain reaction (iiPCR)기술을 이용한 Hand held Nucleic acid analyzer인 POCKIT DUO를 이용하여 현장에서 시료를 실제 현장에서 반출하지 않고 바이러스의 존재 여부를 확인 가능하기 때문에 외부로 바이러스가 노출되거나 전파될 가능성이 적음

- 자동화 RNA 추출 방식과 Thermal convection 기술을 이용한 PCR을 통하여 1시간 20분 이내에 바이러스의 존재 여부 결과 도출 가능



<그림. POCKIT DUO & insulated isothermal PCR 작동원리>

2. 위탁 연구기관(주카브)

▷ 내동결성 소독제의 효능 시험

농림축산 검역본부의 소독제 효력 확인 고시 제 2017-29호에 따른 규정에서 내동결성 소독제

를 시험하기 위한 선택 조건에 따라 각각의 조건에서 소독제 실험 실시. 각 온도에서의 내동결성 소독제 효능 확인

▷ 소독효능을 지닌 세척제와 내동결성 소독제를 제품화

- 건국대학교 기술인 소독효능을 지닌 세척제와 한양대의 색전이 센서 기술 혼합을 (주)카브로 기술이전 하여 제품화

- 내동결성 소독제의 소독효능을 소독제 관련 점유시장 1위 업체 마이크로젠사의 D-125와 Virkon S의 효능과 유사한 정도로 개선

- (주)카브의 내동결성 소독제의 제품화

▷ 바이러스 제거 확인 기술의 등록

바이러스 제거 확인 기술인 POCKIT DUO의 국내 등록을 위한 실험을 진행 후 민감도와 특이도의 측정

- 저병원성 조류인플루엔자에 대한 닭 임상시료 50건, 오리 임상시료 50건

- 고병원성 조류인플루엔자에 대한 닭 임상시료 50건, 오리 임상시료 50건

3. 협동연구기관 (체리부로)

체리부로는 국내 닭고기 생산 업체로 본 연구에서 양계농장에 직접 바이러스 제거 기술을 적용 가능하게 함.

▷ 농장에 세척제 적용을 통한 세척 확인 실험

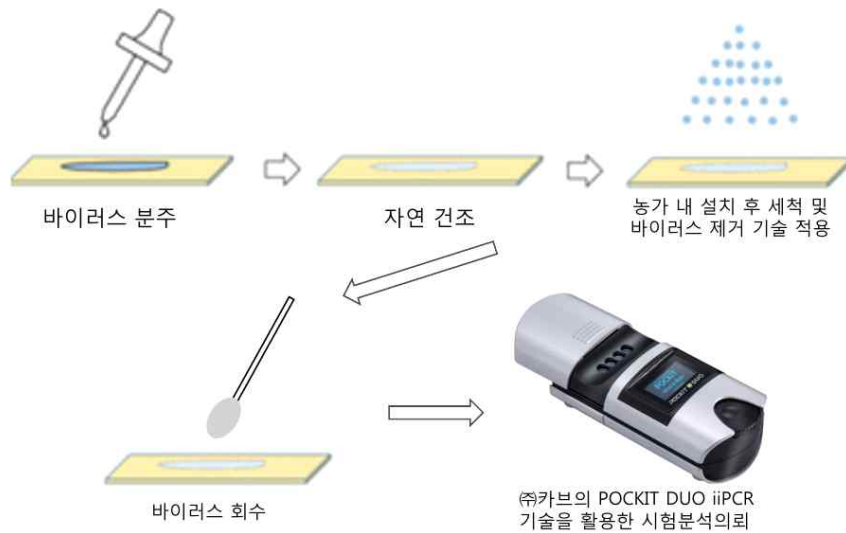
- 세척여부 확인실험: 협동 연구기관인 체리부로의 농장에서 바이러스 제거관련 기술을 적용 후 위탁 연구기관인 한양대의 색전이 센서 개발 기술을 통하여 바이러스 제거기술 적용 후 효과적인 세척이 이루어졌는지에 대한 확인.

혈흔을 찾을 때 사용하는 루미놀 실험과 치아표면의 플라그를 확인 할 때 사용하는 치면착색제와 같이 눈에 보이지 않는 오염물과 반응하여 쉽게 식별 할 수 있는 색전이 센서 제작.

▷ 농장 내 바이러스 제거 확인 시험

- 농장 내 내동결성 소독제 도포 후 바이러스 제거여부 확인

- POCKIT DUO 기술을 보유한 (주)카브에 시험분석의뢰를 하여 바이러스 제거 여부 확인



<그림. 농장 내 바이러스 제거 여부 확인 시험 모식도>

- 농장 내 시료 채취 방법

농장 내 시료 채취시 농림축산식품부의 조류인플루엔자 긴급행동지침의 '시료채취 및 송부'에 의거하여 아래 그림과 같이 축사 내 일부분에 편향되지 않도록 골고루 채취한다. 시료 채취 시 멸균 면봉을 이용하여 채취를 진행하며 채취된 면봉을 15ml conical tube 내 PBS 3ml에 pooling 하여 상층액을 이용하여 시료 검사 진행.

▷ 재입식 매뉴얼 확립 및 적용

- 본 과제에서 (주)카브의 내동결성 소독제를 적용한 효과적인 바이러스 제거기술과 고민감도를 가진 POCKIT DUO 기술을 이용하여 국내 농가의 문제점을 완충하는 매뉴얼 수립
- 농가에 재입식 매뉴얼 적용 후 개선 및 피드백

4. 위탁연구기관 (한양대학교)

▷ 세척여부 확인을 위한 색전이 센서의 적용

-실험실 및 실제 농장 내 바이러스 제거 기술을 적용하여 색전이 센서를 이용한 스프레이 분사를 통하여 분변 잔류 여부 확인. 세척여부 확인 후 분변이 제거 되지 않은 것이 확인 될 경우 재세척을 통하여 분변을 제거하는 매뉴얼을 적용 예정임.

▷ 농장 적용 가능 형태의 제품화 개발 추진

- 제품화 개발 시 센서 자체의 환경 독성 정도를 고려하여 개발 추진
- 발색에만 집중하여 제품을 개발하기보다는 경제성, 환경 독성 등 현실적으로 요구되는 특성도 고려

2장. 연구수행 내용 및 결과

제 1 절. 연구개발 목표 및 결과

세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
○소독효과를 지닌 세척제를 이용한 인플루엔자 소독효능 측정	- 조류인플루엔자 및 살모넬라균에 대한 유효희석배율 측정	- 조류 인플루엔자: 경수조건에서 30배 희석 시, 유기물 조건에서 10배 희석 시 소독 효능이 유지되었음 - 살모넬라: 경수조건시 10배 희석 시, 유기물 조건 시 원액에서 소독 효능이 유지되었음
○바이러스 제거기술 확인을 위한 POKKIT Duo 의 성능 시험	- 실험실 내에서 AIV M RNA transcription을 통한 - 고병원성 인플루엔자 및 저병원성 인플루엔자를 닭, 오리에 감염시켜 얻은 시료를 이용하여 기존 Real-time PCR을 이용한 검출 방법과 성능비교	- 저병원성 조류 인플루엔자: 민감도 - 고병원성 조류 인플루엔자: 민감도 - 최소 검출한계: 14copy/reaction
○실험실 내 사육환경에서 바이러스의 제거 기술 및 제거여부 확인	- 실험실 내에서 세척과 소독 진행 이후 바이러스 제거여부 확인	- 색전이 센서를 통한 세척 검증 및 소독 이후 iiPCR을 통한 소독을 확인함
○내동결성 소독제 개발	- 내동결성 소독제의 제형별 효능과 내동결성 측정	- 실험결과 1번-10의 제형에서 5배 희석했을 시 -5℃에서 얼지 않았고, 5번-2 제형에서 5배 희석 시 -10℃에서 얼지 않음을 확인함
○내동결성 소독제의 효능 측정	- 내동결성 소독제의 조류인플루엔자와 살모넬라에 대한 각 온도별 유효희석배수를 측정	- 조류 인플루엔자에 대한 효능 시험: 각 조건별 시험 결과 가루(10) 제형에서 효력배수가 10배로 측정됨 - 살모넬라: 1번-10, 5번-2 제형의 소독제에서 효력배수가 2배로 측정 됨
○색전이 센서 OPD를 이용한 Uric acid 검출 색전이 센서 물질 개발 및 최적화	- Uric acid 검출을 위한 색전이 물질 OPD를 개발. - 사용 후 세척의 용이성을 높이기 위해 수용성 OPD를 제작하기 위해	- uric acid와 OPD가 반응하여 붉은색에서 무색으로 색변화

	<p>sulfuric acid를 사용하여 sulfonation.</p> <ul style="list-style-type: none"> - uric acid 검출을 위한 검출 조건 확립 및 최적화 	
○ 색전이 센서 OPD를 실제 분변에 적용	<ul style="list-style-type: none"> - 실제 분변을 채취하여 uric acid에서 최적화된 센서 조건으로 스프레이로 분사하여 대면적으로 적용 	<ul style="list-style-type: none"> - OPD가 분변과 반응하여 붉은색에서 무색으로 색변화 - 대면적 (12x12 cm)으로 uric acid와 실제 분변을 가지고 스프레이 형식으로 적용한 결과 뚜렷하게 확인 가능
○ 염 첨가제에 따른 색변화 및 반응성 최적화	<ul style="list-style-type: none"> - 선정된 첨가제를 통한 최적의 반응 조건을 찾고 가장 효율적인 조건 확보 	<ul style="list-style-type: none"> - PTA 물질을 이용한 색전이 센서 개발 - TMB 물질을 이용한 색전이 센서 개발
○ 해외 농가 HPAI 발생 후 재입식 매뉴얼 조사	<ul style="list-style-type: none"> - 미국의 차단방역 및 재입식 관련 사항 조사를 위하여 Red book, APHIS 재입식 매뉴얼, USDA standard operating procedure 등의 문헌 조사 - 호주의 차단방역 및 재입식 문헌 조사: Australian veterinary emergency plan - 영국의 차단방역, 재입식 문헌 조사: Notifiable avian disease control strategy for GB - FAO 차단방역 및 재입식 매뉴얼 조사 	<ul style="list-style-type: none"> - 미국: 방역대 설정 시 지역과 구역으로 나누어 관리를 실시. 동물 복지를 고려한 살처분 방법 제시, 재입식은 21일 휴지기 이후 세척, 소독 이후 환경검사 음성일 경우 재입식 - 호주: AI 비발생국으로 상세한 내용을 언급하지 않음. 방역대는 제한, 통제 영역으로 구분. 세척 소독 완료 21일 후 재입식 가능 - 영국: 방역대 설정은 방어, 감시지역으로 설정, H5N1 발생시에는 제한지역 추가. 2차 소독 후 APHIS 평가 만족 시 21일 후 재입식 가능 - FAO: 방역대는 제한, 통제 영역으로 설정. 발생 21일 후 재입식 실험 실시. 임상증상이 없고 환경검사 음성 시 재입식 가능
○ 국내 농가 HPAI 재입식 매뉴얼 조사	<ul style="list-style-type: none"> - 국내 AI 관련 차단방역 매뉴얼인 ‘조류인플루엔자 긴급행동지침’ 문헌 조사 	<ul style="list-style-type: none"> - 우리나라의 방역대는 관리, 보호, 예찰지역 등 3구역으로 구분하여 관리 - 발생 농장의 경우 2회의 세척 및 소독을 무조건 실시해야 함 - 지자체와 검역본부의 농장 점검 평가에서 이상이 없을 경우 재입식 실험 실시 - 실험에서 임상증상과 바이러스 음성일 경우 재입식 가능

<p>○해외와 국내 재입식 매뉴얼 비교 분석</p>	<p>- 방역행동 시 구역설정, 사체 처리 및 재입식과 관련된 사항 등 비교</p>	<p>- 모든 매뉴얼에서 AI 전파 예방을 위해 방역대를 설정하지만 각 구역별 면적 및 방역대 종류는 조금씩 상이함 - 미국, 호주 및 국내 매뉴얼은 세척소독과 관련된 상세내용을 제공하지만 나머지 국가는 개괄적 내용만 포함 - 모든 국가에서 21일의 휴지기 이후에 입식 또는 입식 시험이 진행되는 것이 동일함. 검증방법 및 검사방법 등은 조금씩 상이함</p>
<p>○국내 재입식 매뉴얼 문제점 및 보완사항</p>	<p>- 세척/소독 방법, 소독효과 검증 방법, AI 바이러스 환경검사 등의 주요 사항에 대한 보완사항 탐색 및 구상</p>	<p>- 현재 세척 소독효과의 검증 방법이 육안검사로 한정되어 객관적으로 검증할 수단이 필요함 - 매뉴얼 권장사항대로 세척 시 세정제를 사용하는 것이 좋음. 환경독성이 낮은 것으로 사용하는 것이 추천됨 - 매뉴얼 권장 소독제 중 일부 소독제는 효과적인 소독에 적합하지 않은 것으로 판단되어 교체 필요함 - 환경인플루엔자 검사 시 검사의 유의성을 높이기 위하여 넓은 구역을 샘플링하는 미국 방식 도입이 필요한 것으로 보임</p>
<p>○세척제 적용을 통한 세척 확인 실험</p>	<p>- 세척제 적용에 따른 분변 제거 및 소독효과 실험 (3개 농장 대상)</p>	<p>- 육안검사 결과 세척제 적용 여부에 따른 차이 발생하지 않음 - 세척제 적용 시 분변제거 효과 우수 - 세척 후 시험구, 대조구 모두 소독 효과 없음 - 소독 후 세척제 사용 시 소독효과가 더 우수한 것으로 확인</p>
<p>○농장 내 바이러스 제거 실험</p>	<p>- Disc를 통해 A/PR/8/34 바이러스를 점적하여 농장에 적용 이후 세척 및 소독 이후 바이러스 제거 정도 확인</p>	<p>- 물 세척과 세척제 세척 비교 시 세척제를 이용한 세척 시 바이러스 제거 효과가 더 우수 - 소독 이후에 바이러스</p>

	- POKKIT Micro DUO iiPCR과 중란 접종법을 통하여 바이러스 제거 여부 및 제거 정도 확인	대부분의 바이러스 제거 확인
○재입식 매뉴얼 확립	- 1년차 해외 및 국내 매뉴얼 조사결과를 기반으로 재입식 매뉴얼 작성	- 국내 매뉴얼의 내용을 추가 보완하는 방향으로 작성 - 세척 및 소독 방법 상세화 - 세척 효능을 검증할 수 있는 육안검사, 색전이센서 검사 방법 수립 - 소독 효능을 검증할 수 있는 세균수 검사, 바이러스 검사 방법 수립
○재입식 매뉴얼 현장 적용 및 보완	- 매뉴얼 5개 농가 적용 후 농가의견 수렴 및 보완	- 매뉴얼 적용 결과 세척 및 소독효과 양호 - 매뉴얼 내 육안검증 및 세균수 검사 권장 site 설정 내용 추가보완 - 세균수 검사 결과 해석 guideline 추가 보완

■ 친환경 세척제의 효능 평가

1. 친환경 세척제의 소독제 효능 시험

가. 조류 인플루엔자에 대한 소독제 효능 시험

- 저병원성 조류인플루엔자 바이러스 (H9N2)를 이용하여 경수 조건, 유기물 조건에서의 소독효능을 시험함
- 바이러스를 함유한 희석액을 4℃에서 30분 간 소독제와 반응 후 반응액을 발육란에 접종하여 바이러스에 대한 소독력을 파악
- 대조군과 비교하여 10⁴ Reduction이 확인 되었을 때의 희석 배수
- 모든 시험은 3회반복 시험하여 20% 오차범위 내의 결과의 중위수를 최종 희석배수로 판단함

처리구	유효희석배수
경수조건	30배 미만
유기물 조건	10배

나. 살모넬라에 대한 세척제 효능 시험





- *Salmonella typhimurium*를 이용하여 경수 조건, 유기물 조건에서의 소독효능을 시험함.
- 세균을 함유한 희석액을 4℃에서 30분 간 소독제와 반응 후 영양배지에 배양하여 세균에 대한 소독력을 파악
- colony가 4개 이상 증식이 되지 않는 최종 소독희석 단계에 대하여 유효희석배수로 판단함.
- 모든 시험은 3회반복 시험하여 20% 오차범위 내의 결과의 중위수를 최종 희석배수로 판단함.







처리구	유효희석배수
경수조건	10배
유기물 조건	원액

■ 내동결성 소독제

1. 내동결성 소독제와 타 소독제의 종류별 혼합능 확인

- 아래 표와 같이 각 소독제 원료에 따라 내동결성 소독제와 혼합이 가능한지 파악함

	제품명	제조사	성분	10번흔들고 1분후
4급암모늄	팜닥터	참신약품(주)	Quaternary ammonium chloride, Citric acid	
	제로클린	(주)이엘티 사이언스	Quaternary ammonium chloride, Phosphoric acid, Citric acid	
	세탁-큐	(주)케어사이드	복합 4급 암모늄	
	하나텐 파워	주식회사 성원	4급암모늄 100g, 구연산 200g, 인산 100g	

알데히드	라이프라인	고려비엔피	Alkyl benzyl dimethyl ammounium chloride, Glutaraldehyde, Formaldehyde	
	윌로벨 유한웰클리어	고려비엔피	벤잘코늄염화물액200g, 시트르산수화물274g	
	바로클린	한국섬벤주식회사	Benzalkonium chloride, Citric Acid hydrate, Phosphoric Acid	
삼종염	버콘 S	이화팜텍	삼종염500g, 사과산 100g	
과산화수소	블루스카이	제이비 동물약품	과산화수소 과초산	
구연산	스누캡-에프액	KAL	무수구연산 자몽추출액	
시트르산	시트러스 플러스	Komipharm	시트르산수화 자몽추출액	
염소	바이탈 옥사이드	대한뉴팜	이산화염소 비테인염산염	

2. 동결방지용 소독제인 [동장균]의 소독제 효능평가 방법

가. 동장균은 동결방지 목적으로 개발 된 소독제로 Potassium Hydroxide, Potassium Acetate, Sodium Chloride의 혼합물임

나. 조류인플루엔자에 대한 효능시험 (표준시험 & 선택시험)

실험 방법

1) 바이러스의 배양

- 계대 배양 중의 활력 있는 바이러스를 사용하고 바이러스의 증식이 최대인 바이러스를 사용하며, 최대인 시점에서 채득하여 사용직전까지 단시간 동안 얼음물에서 보관한다.
- 바이러스의 희석은 소독제 효력시험지침 (농림축산검역본부 고시 제2018-16호)을 참조하여 조건에 맞게 경수희석액, 5% 유기물 희석액을 사용한다.

2) 소독제 시험용액 준비

- 시험에 사용되는 소독제는 소독제 효력시험지침 (농림축산검역본부 고시 제2018-16호) 별표 2에 근거하여 시험균액과의 반응 전의 희석농도를 희석배수로 소독제 희석액을 준비한다.

3) 소독제의 희석

- 소독제를 '1'항의 소독제 효력시험 처리구의 방법으로 100배, 200배, 300배, 500배, 800배, 1,000배, 1,200배, 1,600배 희석한다. 단, 소독제의 유효예상 희석배수가 500배 이하일 경우는 50배, 100배, 150배, 200배, 250배, 300배, 400배, 500배 등으로 희석한다.
- 소독제의 희석은 소독제 효력시험지침 (농림축산검역본부 고시 제2018-16호)을 참조하여 조건에 맞게 경수희석액, 5% 유기물 희석액으로 한다.

4) 저온 조건의 설정 (선택시험 시)

- 각 선택 시험 조건 0°C(선택시험 1), -5°C (선택시험 2), -10°C (선택시험 3)의 환경 조성은 온도지시조절계(T.C 700, 드림과학) 또는 동등한 성능을 가진 온도 지시조절계를 사용하여 온도 조건을 설정한다.



<그림. 온도 지시 조절계 외부(좌), 내부(우) 사진>

5) 소독제의 반응

① 바이러스의 준비

- 1) 에서 증식된 4°C의 바이러스 액(요막강액) 1.0 mL를 4°C의 바이러스 희석액 (경수희석액, 5% 유기물 희석액) 19 mL과 섞는다.

② 소독제 반응

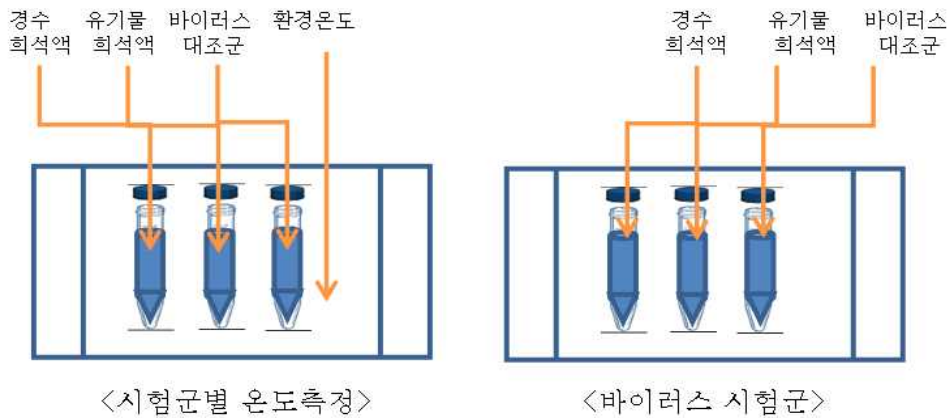
<표준시험 조건>

- 소독제 효력시험지침 (농림축산검역본부 고시 제2018-16호) 별표2에 근거하여 준비된 바이러스액 2.5mL를 1분 간격으로 4° C 상태의 동량의 소독제 희석액이 들어있는 시험관에 넣고 혼합한 다음(총 5mL), 4° C에서 정확히 30분간 반응을 시키며 도중에 10분마다 혼합하여 준다.
- 이 경우 대조구(처리구-3)를 반드시 포함시켜 처리한다. 대조구도 시험구와 같은 반응 온도로 반응한다. 대조구는 소독액 대신에 경수를 사용하는 점만 다르다.

<선택시험 조건>

- 소독제 희석액 및 바이러스 희석액을 아래의 그림과 같이 동일한 조건의 시험관을 준비한 후 시험군별 각각 온도계를 넣어 0° C(선택시험 1), -5° C(선택시험 2), -10° C(선

택시험 3) 에 도달한 온도를 측정한다.



- 선택온도에 도달한 시점부터 소독제 효력시험지침 (농림축산검역본부 고시 제2018-16호) 별표2에 근거하여 준비된 바이러스액 2.5mL를 1분 간격으로 0° C(선택시험 1), -5° C (선택시험 2), -10° C (선택시험 3) 상태의 동량의 소독제 희석액이 들어있는 시험관에 넣고 혼합한 다음(총 5mL), 0° C(선택시험 1), -5° C (선택시험 2), -10° C (선택시험 3)에서 정확히 5분, 10분, 20분간 반응을 시키며 혼합하여 준다.

- 이 경우 대조구(처리구-3)를 반드시 포함시켜 처리한다. 대조구도 시험구와 같은 반응 온도 및 반응시간으로 처리한다. 대조구는 소독액 대신에 경수를 사용하는 점만 다르다.

6) 중화반응

- 소독제의 효능을 중화하기 위해 소독제 효력시험지침 (농림축산검역본부 고시 제 2018-16호) 별표2에 근거하여 소독제와 병원체의 반응이 끝나면 즉시 1.0mL를 꺼내어 37° C 동량의 중화배지(10% FBS이 함유된 PBS)에 넣고 혼합한 다음 발육란에 접종하여 바이러스 함량을 측정한다.

7) 바이러스 감염력 상실 정도 측정

- 중화액을 PBS를 사용하여 원액, 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵로 희석하고 희석배수 당 5개의 10일란 발육란에 중화된 반응액 0.2mL를 요막강 내로 접종한다.
- 접종 후 37° C에서 5일 동안 배양하며, 매일 검란을 실시하고, 접종 24시간 이내에 죽은 발육란은 사고사로 간주하고 시험성적에서 제외한다.
- 접종 24시간 후부터 5일 이내에 죽은 접종란은 모두 4° C에 보관한다.
- 접종 5일 후까지 살아남은 모든 발육란과 4° C에 보관된 죽은 접종란으로부터 요막강액을 각각 채취하고, 1% 닭적혈구를 사용한 혈구응집반응을 실시하여 바이러스의 존재 유무 및 바이러스 역가를 최종 판정한다.

8) 바이러스 함유량 계산

- Kaeber method 로 한다.

9) 대조군의 검정 등

- 병원체 대조군은 경수 조건에서 소독제 없이 실험하고 위의 중화반응 단계에서 병원체의 역가가 ml당 2x10⁵EID50이상이 확인되어야 한다.

다. 살모넬라에 대한 소독 효능 시험방법

실험방법

1) 재료

- 고압멸균된 영양배지(nutrient broth)를 사용한다.
- 약품성분 중화배지: 영양배지에 불활화(56℃에 30분 처리)한 말혈청 5%를 함유한 배지
- 유기물 희석액: 소독제의 희석에 사용. 20%(w/v) 효모추출물(yeast extract)을 증류수에 만들어 고압멸균하고, 사용시 경수로 희석하여 5% 희석액을 제조한 뒤, 1N 수산화나트륨으로 pH 7.0으로 맞추어 사용한다.

2) 세균배양

- 계대 중의 살모넬라균을 배지에 심어 활력이 인정되는 22~26시간동안 배양한 세균을 사용하되, 사용 당일까지 37℃를 유지시켜야 한다.
- 배양한 세균을 고압멸균된 영양배지(nutrient broth)에 $10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} \sim 10^{-10}$ 로 희석하여 nutrient agar plate에 희석배수당 0.1mL씩 접종, 37℃에 22~26시간동안 배양하여 Single colony 수를 세고 colony forming unit per milliliter (CFU/mL)로 나타낸다. 사용세균의 농도는 mL 당 1×10^8 이상이어야 한다.

3) 소독제의 희석

- 소독제 희석과 관련하여 소독제 효력시험지침 (농림축산검역본부 고시 제2018-16호) 별표1에 근거하여 예상되는 소독제의 유효희석배수가 500배 이하일 경우는 50배, 100배, 150배, 200배, 250배, 300배, 400배, 500배 등으로 희석하되, 그 이상의 예상 희석배수 농도 및 더 정밀한 희석배수 산정을 위해서는 희석배수 농도를 달리할 수 있다.
- 소독제의 희석은 경수나 유기물희석액을 이용하며, 경수처리구는 경수로, 유기물처리구는 유기물희석액으로 한다.

4) 소독제의 반응

- 37℃에서 배양한 세균 4mL를 4℃의 5% 유기물희석액 96mL에 섞은 후, 혼합액 2.5mL를 꺼내어 4℃ 항온수조에 보관된 동량의 소독제 희석액이 들어있는 5개 시험관에 넣고 혼합한 다음 4℃에서 정확히 30분간 반응을 시킨다.
- 각 시험관 처리는 차례대로 1분의 간격으로 실시하며 도중에 10분마다 혼합하여 준다.

5) 중화반응 및 증식

- 정확히 30분간의 반응이 끝나면 소독제의 효능을 중화하기 위하여 즉시 1.0mL을 꺼내어 37℃의 9.0mL 중화배지에 넣고 혼합한 다음, 각 소독제 희석별로 0.1mL씩 5개 시험관의 영양배지(nutrient broth)가 들어있는 시험관에 넣어 혼합한다.
- 37℃ 항온실에서 48시간 배양한다.

6) 세균증식여부의 판정

- 5개의 동일 소독제 희석배수의 영양배지에서 4개 이상 증식이 인정되지 않는 최종 소독 희석 단계를 희석배수로 한다.

7) 대조군의 검정

- 병원체 대조군은 경수 조건에서 소독제 없이 실험하고 중화반응 및 증식 단계에서 병원체의 역가가 mL당 2×10^5 이상이 확인되어야 한다.

3. 동장군 소독제의 제형에 따른 효능 시험

가. 동장군 소독제의 가루 제형에 따른 살모넬라, 조류 인플루엔자 (표준 시험 및 선택 시험) 소독 효능을 평가함.

실험 결과

1) 조류인플루엔자 바이러스 소독 효능 시험

<표. 조류인플루엔자 바이러스 소독 효능 평가 시험>

시험일자	제형	시험종류 및 온도/반응시간			효력배수
2018.7.27	가루(0)	표준시험	4℃/30분	4℃냉장	효과없음
		선택시험	-10℃/10분	저온기기	효과없음
			-10℃/20분	저온기기	효과없음
2018.7.27	가루(2)	표준시험	4℃/30분	4℃냉장	효과없음
		선택시험	-10℃/10분	저온기기	효과없음
			-10℃/20분	저온기기	효과없음
2018.7.27	가루(10)	표준시험	4℃/30분	4℃냉장	10배
		선택시험	-10℃/10분	저온기기	10배
			-10℃/20분	저온기기	10배

실험 일자	번호	제형	유기물
2018.7.26	1번-0	고운가루	효력없음
	1번-2	고운가루	효력없음
	1번-10	고운가루	2배
2018.8.31	3번	습한가루	효력없음
2018.9.17	5번-2	고운가루	2배

각 조건별 시험 결과 가루(10) 제형에서 효력배수가 10배로 측정됨

2) 살모넬라에 대한 소독제 효능 시험

- *Salmonella typhimurium*를 이용하여 유기물 조건에서의 소독효능을 시험함.
- 세균을 함유한 희석액을 4℃에서 30분 간 소독제와 반응 후 영양배지에 배양하여 세균에 대한 소

독력을 파악

- colony가 4개 이상 증식이 되지 않는 최종 소독희석 단계에 대하여 유효희석배수로 판단함.
- 모든 시험은 3회반복 시험하여 20% 오차범위 내의 결과의 중위수를 최종 희석배수로 판단함
- 1번-10, 5번-2 제형의 소독제에서 효력배수가 2배로 측정 됨

4. 동결방지용 소독제 동결시험

가. 동결방지용 소독제를 각 배수별로 희석하여 콜드룸에서 -5℃ 또는 -10℃에서 24시간 반응하여 동결 여부를 확인함

번호	제형	희석배수/반응온도	결과
1번-10	고운가루	5배/-5℃	얼지않음
		8배/-5℃	표면에 살얼음
		10배/-5℃	1cm두께얼음
		5배/-10℃	표면에 살얼음
2번	습한가루	5배/-5℃	얼지않지만 침전물 생김
3번	고운가루	5배/-10℃	표면에 살얼음
4번	고운가루	5배/-10℃	표면에 살얼음
5번-1	고운가루	5배/-10℃	표면에 살얼음
5번-2			얼지않음
5번-3			표면에 살얼음
5번-4			표면에 살얼음
5번-2	고운가루	10배/-5℃	얼음

-실험결과 1번-10의 제형에서 5배 희석했을 시 -5℃에서 얼지 않았고, 5번-2 제형에서 5배 희석 시 -10℃에서 얼지 않음을 확인함

5. 동장균 소독제 시제품의 소독제 효능평가

실험 결과

가. 동장균 시제품에 대하여 살모넬라 균에 대한 소독 효능 시험을 진행함

1) 살모넬라

<표. *Salmonella typhimurium* 균에 대한 소독제 효능시험결과>

처리구	경수	유기물	소독제	비고	조사 항목	1차 시험	2차 시험	3차 시험
1 유기물 저	+	-	+	경수 조건	배수	80	80	80
2 유기물 고	+	+	+	유기물/경수 조건	배수	4	4	4

3	+	-	-	처리구 1,2의				
병원체 대조				대조				

나. 동장군 시제품에 대하여 조류 인플루엔자 대한 표준시험, 선택 시험 소독 효능 시험을 진행함

1) 표준시험 결과

<표. 조류 인플루엔자 바이러스에 대한 종란 접종시험 1회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:80	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:100	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:150	5/5	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5	0/5
	1:80	5/5	5/5	4/5	1/5	0/5	0/5
	1:100	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5
	1:150	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	1/5

<표.조류 인플루엔자 바이러스에 대한 종란 접종시험 2회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:80	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1:100	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5
	1:150	5/5	5/5	5/5	5/5	4/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5
	1:80	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5
	1:100	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5
	1:150	5/5	5/5	5/5	5/5	4/5	2/5

<표 조류 인플루엔자 바이러스에 대한 종란 접종시험 3회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:80	5/5	4/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1:100	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:150	5/5	5/5	5/5	5/5	4/5	1/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5
	1:80	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:100	5/5	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5
	1:150	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5

- 조류 인플루엔자 바이러스에 대한 소독제 효능시험 결과 요약

<표. 조류인플루엔자에 대한 소독제 효능 시험 (표준시험) 결과>

처리구	경수	유기물	소독제	비고	조사항목	1차 시험	2차 시험	3차 시험	중위수
1 유기물 저	+	-	+	경수 조건	배수	50	50	50	50
2 유기물 고	+	+	+	유기물/경수 조건	배수	30	30	30	30

2) 선택시험 결과

- 선택시험 1: 0°C 조건 (반응시간 5분, 10분, 20분에 대하여 각각 3회 접종시험)

(가) 반응시간 5분 조건

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 1 5분조건 접종시험 1회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 1 5분조건 접종시험 2회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5
동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 1 5분조건 접종시험 3회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5

(나) 반응시간 10분 조건

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 1 10분조건 접종시험 1회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 1 10분조건 접종시험 2회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 1 10분조건 접종시험 3회차 결과>

동장균 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5
동장균 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5

(다) 반응시간 20분 조건

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 1 20분조건 접종시험 1회차 결과>

동장균 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 1 20분조건 접종시험 2회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 1 20분조건 접종시험 3회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5

- 선택시험 2: -5℃ 조건 (반응시간 5분, 10분, 20분에 대하여 각각 3회 접종시험)

(가) 반응시간 5분 조건

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 2 5분조건 접종시험 1회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 2 5분조건 접종시험 2회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5
동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 2 5분조건 접종시험 1회차 결과>

동장균 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5

동장균 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5

(나) 반응시간 10분 조건

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 2 10분조건 접종시험 1회차 결과>

동장균 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 2 10분조건 접종시험 2회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 2 10분조건 접종시험 3회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5
동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5

(다) 반응시간 20분 조건

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 2 20분조건 접종시험 1회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	3/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 2 20분조건 접종시험 2회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	3/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 2 20분조건 접종시험 3회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	3/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5

- 선택시험 3: -10℃ 조건 (반응시간 5분, 10분, 20분에 대하여 각각 3회 접종시험)
(가) 반응시간 5분 조건

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 3 5분조건 접종시험 1회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	4/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 3 5분조건 접종시험 2회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5
동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 3 5분조건 접종시험 3회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	4/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5

(가) 반응시간 10분 조건

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 3 10분조건 접종시험 1회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 3 10분조건 접종시험 2회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5

동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액		중 화 액					
소독제		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	3/5	0/5

<표. 조류인플루엔자 바이러스 선택시험 3 10분조건 접종시험 3회차 결과>

동장군 산 처리구1		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5
동장군 산 처리구2		AIV 양성수수/SPF 발육란 접종수수					
중화액 소독제		중 화 액					
		원액	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
소 독 제	1:10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:20	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:30	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	1:40	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
	1:50	5/5	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5

5. 동장군 소독제 시제품의 표준 시험 및 선택 시험에 따른 권장 희석 배수

가. 표준시험에 따른 권장희석 배수

소독대상		권장희석배수		
		대상 질병명	일반질병 (세균) <i>Salmonella typhimurium</i>	특정바이러스 (조류인플루엔자) <i>Avian Influenza</i>
		시험결과 (유:유기물조건) (경:경수 조건)	3 64	24 40
유기물이 많은	소독조(발판), 출입구, 축사바닥, 운동장, 운반기구(농장용, 동물운송, 분뇨, 사료, 건조, 우유, 차량 등) 발생주변, 발생지농장 출입차량 내외부 등	[세(유)+특(유)]	3	24

소독대상				
유기물이 적은 소독대상	축사공간, 일반차량, 운전석 내부	및 축사기구, 도로 등	[세(경)+특(경)]	64
				40

나. 선택시험에 따른 권장희석 배수

소독대상		권장희석배수									
		대상 질병명	특정바이러스 (조류인플루엔자) <i>Avian Influenza</i>								
			선택시험1			선택시험2			선택시험3		
			5분	10분	20분	5분	10분	20분	5분	10분	20분
시험결과 (유:유기물조건) (경:경수조건)		16 16	16 16	16 16	16 16	16 16	16 16	16 16	16 16	16 16	
유기물이 많은 소독대상	소독조(발판), 출입구, 축사바닥, 운동장, 운반기구(농장용, 동물운송, 분뇨, 사료, 건조, 우유, 차량 등) 발생 주변, 발생지 농장 내 외부	[세(유)+특(유)]	16	16	16	16	16	16	16	16	
유기물이 적은 소독대상	축사공간 및 축사기구, 일반차량, 운전석 내부	[세(경)+특(경)]	16	16	16	16	16	16	16	16	

6. 시험 결과

-이상의 시험결과 소독제 동장군 산 (Potassium Hydroxide, 冬將軍)은 소독대상병원체 avian influenza 바이러스에 대해서는 5% FBS의 유기물 고 처리 조건에서 소독제 희석배수 30배까지, 소독대상병원체 avian influenza 바이러스의 선택시험1에 대해서는 5% FBS의 유

기물 고 처리 조건에서 반응시간 5분은 20배까지, 10분은 20배까지, 20분은 20배까지, 소독 대상병원체 avian influenza 바이러스의 선택시험2에 대해서는 5% FBS의 유기물 고 처리 조건에서 반응시간 5분은 20배까지, 10분은 20배까지, 20분은 20배까지, 소독대상병원체 avian influenza 바이러스의 선택시험3에 대해서는 5% FBS의 유기물 고 처리 조건에서 반응시간 5분은 20배까지, 10분은 20배까지, 20분은 20배까지 인정되었다. 그리고 일반병원체 *Salmonella typhimurium* 균에 대해서는 5% yeast extract의 유기물 고 처리 조건에서 소독제 희석배수 4배까지 소독효과가 인정되었다

■ 바이러스 제거 확인기술

1. 바이러스 제거 여부 확인 기술 효능 검사

가. POCKIT DUO의 성능 평가

1) 분석적 성능 평가

- POCKIT DUO의 분석적 성능을 위하여 조류 인플루엔자 바이러스의 M 유전자를 in vitro transcription하여 copy number 수준의 최소 검출한계를 계산함.
- 기존 조류인플루엔자 바이러스 검출 방법인 리얼타임 PCR (rRT-PCR)방법과 비교함.

<표. RNA copy number 수준의 최소검출한계 확인>

RNA copy number / reaction	POCKIT DUO (Semi-automated iiPCR)	rRT-PCR ABI 7500 (C _t)		
		1 st	2 nd	3 rd
1000	3/3	31.31	31.72	31.58
100	3/3	34.98	35.89	35.33
10	2/3	38.24	39.65	38.24
1	0/3	UD*	UD	UD

PROBIT	Probability (%)	Estimate (RNA copy number)
	92	12.518
	93	12.707
	94	12.918
	95**	13.158
	96	13.440
	97	13.787
	98	14.249
	99	14.976

- PROBIT Assasy 통계분석을 통하여 분석한 결과 14 copy number가 최소 검출한계로 분석되었음

- 기존 리얼타임 PCR을 통한 분석법과 유사한 정도의 성능을 나타냄.

2) 임상적 성능 평가

(가) H5N6 고병원성 인플루엔자 바이러스 감염 오리 시료 39건에 대하여 POCKIT DUO를 통하여 측정된 결과

<표. 고병원성 임상시료를 이용한 POCKIT DUO 실험 결과>

Number	Sample	Real-time (Ct value)	POCKIT DUO
1	20 2d	26.99	+
2	40 2d	25.53	+
3	70 2d	24.17	+
4	90 2d	26.68	+
5	100 2d	26.62	+

6	11O 2d	25.13	+
7	12O 2d	24.26	+
8	13O 2d	24.44	+
9	14O 2d	25.2	+
10	15O 2d	24.73	+
11	16O 2d	26.1	+
12	2O 3d	24.57	+
13	4O 3d	24.71	+
14	7O 3d	22.33	+
15	9O 3d	23.38	+
16	10O 3d	23.95	+
17	11O 3d	25.16	+
18	12O 3d	24.48	+
19	13O 3d	24.26	+
20	14O 3d	24.41	+
21	15O 3d	25.13	+
22	16O 3d	24.49	+
23	4O 5d	26.54	+
24	5O 5d	36.17	+
25	6O 5d	Undetermined	+
26	7O 5d	27.86	+
27	8O 5d	Undetermined	-
28	9O 5d	27.03	+
29	11O 5d	27.45	+
30	13O 5d	27.22	+
31	14O 5d	25.76	+
32	15O 5d	27.21	+
33	16O 5d	24.82	+
34	14O 6d	29.57	+
35	4O 7d	33.34	+
36	5O 7d	Undetermined	-
37	6O 7d	Undetermined	-
38	8O 7d	Undetermined	-
39	9O 7d	33.61	+

- Ct value 36.1에 해당하는 샘플도 양성으로 검출할 수 있는 민감도를 나타냄

<표. POCKIT DUO의 고병원성 조류인플루엔자 시료 임상적 성능>

		POCKIT DUO (semi-automated)		
		Positive	Negative	Total
rRT-PCR	Positive	34	0	34
	Negative	1	4	5
	Total	35	4	39
Total agreement: 97.4% (CI _{95%} =86.5-99.9%)κ=0.873				

- 분석 결과 리얼타임 PCR과 97.4%의 총 일치도를 보여주었고 Cohen' s kappa 계수 분석을 통한 비교 분석결과 0.873으로 매우 높은 수준의 일치도를 보여줌

(나) H9N2 저병원성 인플루엔자 바이러스 감염 오리 시료 39건에 대하여 POCKIT DUO를

통하여 측정된 결과

<표. 고병원성 임상시료를 이용한 POCKIT DUO 실험 결과>

Number	Sample	Real-time (Ct value)	POCKIT DUO
1	O1-1	21.71	+
2	O1-2	21.68	+
3	O1-3	20.57	+
4	O1-4	22.45	+
5	O1-5	19.58	+
6	O1-6	21.69	+
7	O1-7	20.37	+
8	O1-8	19.49	+
9	O1-9	19.51	+
10	O1-10	21.73	+
11	O2-1	23.36	+
12	O2-2	21.34	+
13	O2-3	24.49	+
14	O2-4	24.13	+
15	O2-5	24.12	+
16	O2-6	28.14	+
17	O2-7	23.50	+
18	O2-8	19.56	+
19	O2-9	20.63	+
20	O2-10	23.00	+
21	O3-1	21.41	+
22	O3-2	21.41	+
23	O3-3	20.02	+
24	O3-4	21.37	+
25	O3-5	21.28	+
26	V1-1	20.31	+
27	V1-2	15.97	+
28	V1-3	16.89	+
29	V1-4	18.77	+
30	V1-5	15.16	+
31	V1-6	22.58	+
32	V1-7	34.78	+
33	V1-8	22.52	+
34	V1-9	25.68	+
35	V1-10	22.58	+
36	V2-1	21.90	+
37	V2-2	16.15	+
38	V2-3	20.17	+
39	V2-4	25.14	+
40	V2-5	22.51	+
41	V2-6	32.59	+
42	V2-7	21.62	+
43	V4-2	16.33	+
44	V4-3	21.28	+
45	V4-5	16.82	+
46	V4-6	29.70	+
47	V3-1	35.72	-
48	V3-2	36.93	-
49	V3-3	21.84	+

<표. POCKIT DUO의 저병원성 조류인플루엔자 시료 임상적 성능>

		POCKIT DUO (semi-automated)		
		Positive	Negative	Total
rRT-PCR	Positive	48	1	49
	Negative	0	1	1
	Total	48	2	50
Total Agreement: 98.0% (CI _{95%} =0.894-99.9%)κ=0.658				

- 분석결과 리얼타임 PCR과 98%의 총 일치율을 보여주었고 Cohen' s Kappa 계수 분석을 통한 비교 분석 결과 0.658로 준수한 정도의 일치도를 보여주었음. 적은 양의 음성시료에 의해 Cohen' s Kappa 계수가 낮게 측정된 것으로 사료됨.
- 리얼타임 PCR과 POCKIT DUO에서의 결과가 일치 하지 않는 것은 두 방법 모두 M gene을 Target 으로 Detection을 하게 설정이 되어있지만 M gene 내부의 detection하는 위치가 다르고 detection 하는 두 가지 방식 (iiPCR, probe-hydrolysis based rRT-PCR)이 다르기 때문에 일치하지 않는 것으로 사료됨.

3) 특이도 평가

- (가) 다양한 조류 유래 질병(조류 메타뉴모 바이러스 (aMPV), 뉴캐슬 바이러스 (NDV), 전염성 기관지염 바이러스 (IBV), 전염성 후두기관지염 바이러스 (ILTV), 레오 바이러스 (Reo Virus))에 대하여 교차 반응성을 확인함
- (나) 다양한 subtype의 바이러스 (H1N1, H2N1, H3N8, H5N2, H6N2, H7N7, H9N2, H11N9, H10N7)에 대하여 검출이 가능함을 확인함.

<표. 다른 조류유래바이러스 및 다른 subtype 바이러스에 대한 검출능 확인>

바이러스	Virus subtype	POCKIT DUO
A/PR/8/34	H1N1	+
A/Mallard/Korea/K13-288/2010	H2N1	+
A/Mandarin duck/Korea/K17-1656/2017	H3N8	+
A/Wildbird/Korea/K09-652/2009	H5N2	+
A/Beangoose/Korea/K15-136/2015	H6N2	+
A/Wildbird/Korea/K17-903/2017	H7N7	+
A/Wildbird/Korea/K14-246/2014	H9N2	+
A/Wildbird/Korea/K15-45/2015	H11N9	+
A/Wildbird/Korea/K15-309/2015	H10N7	+
NDV-1	NA	-
NDV-2	NA	-
aMPV	NA	-
APMV4-1	NA	-
APMV4-2	NA	-
IBV-1	NA	-
IBV-2	NA	-
IBV-3	NA	-
ILTV	NA	-
Reo virus	NA	-

2. 바이러스 제거확인 기술의 상용화

가. 위 실험 결과를 토대로 바이러스 제거 확인기술 iiPCR 장비인 POCKIT Central Nucleic Acid Analyzer와 POCKIT Avian influenza detection reagent의 동물용의약품 (유전자 증폭장치, 인수공통전염병유전자 검사용 시약) 품목 허가를 받음

제 190 - 3 호

동물용의약품등 []제조 [■]수입 품목 허가증

1. 업 체 명 : 주식회사 카브
 2. 업 종 : 동물용의약품등 수입업
 3. 재 품 명 : 인수공통전염병유전검사용시약[3]
 4. 구 분 : 동물용의료기기
 5. 허 가 조 건 : _
 6. 허가번호 : 제 190 - 3 호
 7. 최초 허가 연월일 : 2020.01.09
 8. 부 표 : 별 점

동물용의약품등허규칙 제 11 조 및 제 16 조 제 4 항 따라 위와 같이 허가 (조건부허가)합니다.

2020 년 1 월 9 일

농림축산검역본부장

제 190 - 002 호

동물용의약품등 []제조 [■]수입 품목 허가증

1. 업 체 명 : 주식회사 카브
 2. 업 종 : 동물용의약품등 수입업
 3. 재 품 명 : 유전자증폭장치(POCKIT Central Nucleic Acid Analyzer)[2]
 4. 구 분 : 동물용의료기기
 5. 허 가 조 건 : _
 6. 허가번호 : 제 190 - 002 호
 7. 최초 허가 연월일 : 2019.03.18
 8. 부 표 : 별 점

동물용의약품등허규칙 제 11 조 및 제 16 조 제 4 항 따라 위와 같이 허가 (조건부허가)합니다.

2019 년 3 월 18 일

농림축산검역본부장

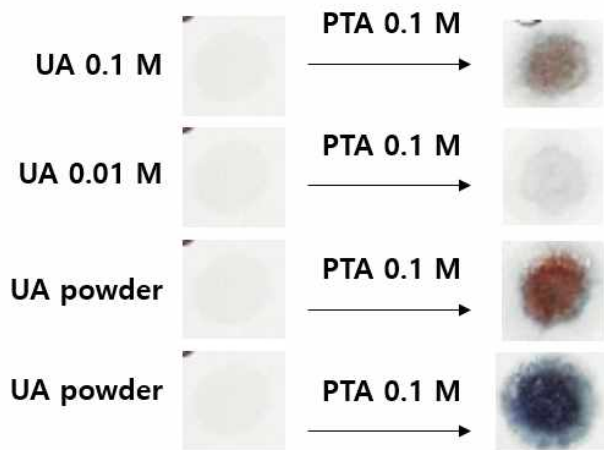
< 그림. 바이러스 제거 기술에 대한 동물용의약품 품목 허가증 >

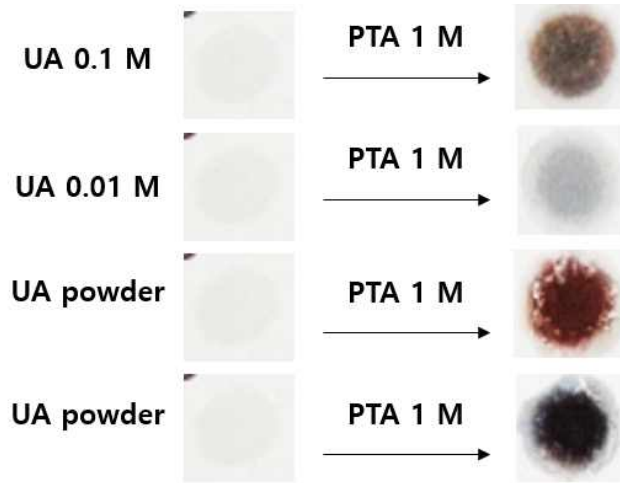
■ 분변 색전이 센서 개발

1. Uric Acid 검출 색전이 센서 물질 개발

가. PTA 물질 개발

- 이 방법은 알카리 조건 하에 uric acid와 PTA가 보다 확실하게 반응함.

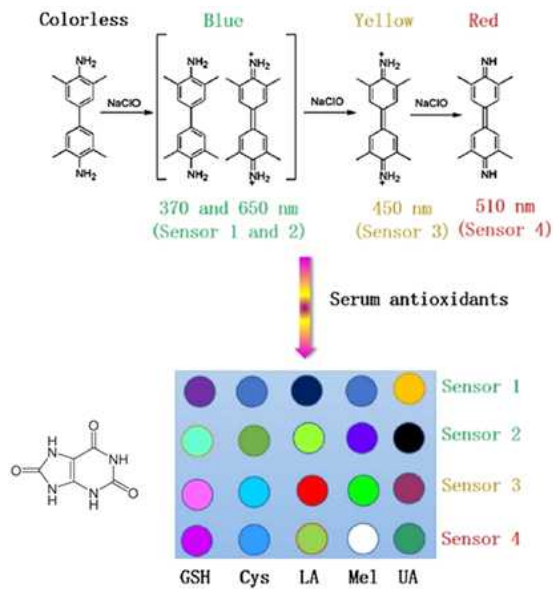




<그림. 도별 검출 물질과 PTA의 반응 후 색변화>

- 검출 물질을 농도별로 필터 종이 위에 건조 시킨 후 PTA를 도포하여 색변화를 관찰함.
- 검출 물질과 색전이 센서 물질이 반응 후 색변환이 일어나는 시간을 기록함.
- 가시적으로 확실한 구별이 가능하고 짧은 시간 (30초) 내에 색변환이 가능함.

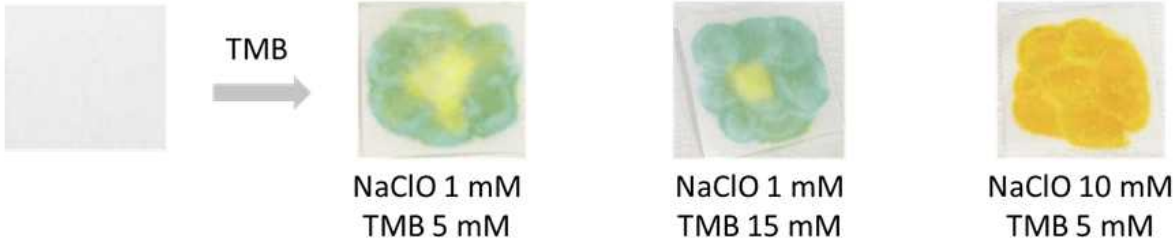
나. TMB 물질 개발



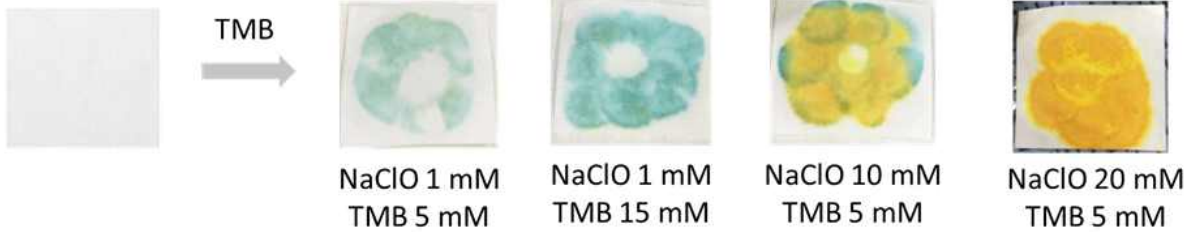
<그림. TMB를 이용한 검출 메커니즘.>

- PTA와 유사하게 알칼리 분위기에서 검출 가능함을 확인.

UA 0.001 M



UA 0.01 M



<그림. UA/TMB 농도에 따른 색변화 비교>

- 검출 물질을 농도별로 필터 종이 위에 건조 시킨 후 TMB를 도포하여 색변화를 관찰함.
- 검출 물질과 색전이 센서 물질이 반응 후 색변환이 일어나는 시간을 기록함.
- 가시적으로 확실한 구별이 가능하고 짧은 시간 (3분) 내에 색변환이 가능함.

다. OPD 물질 개발

- 이 방법은 NaClO를 사용하여 uric acid와 OPD가 보다 확실하게 반응함.
- 기존의 연구에서 금속 나노 입자를 사용하는 방법과는 달리 산화제를 사용하여 간단하게 제작할 수 있음.



<그림 OPD 염료의 구조와 요산 검출에 따른 색변화>

- 요산 10 mM을 0.1 M NaOH에 녹인 용액을 필터종이에 떨어뜨린 후 완전히 말린 후 요산이 부분적으로 있는 필터종이에 환원제인 NaClO 10 mM을 뿌리고 그 위에 에탄올에 녹인 OPD 염료용액을 뿌린 후 색변화를 관찰.
- 검출 물질과 색전이 센서 물질이 반응 후 색변환이 일어나는 시간을 기록함.
- 10초 이내로 요산이 있는 부분을 제외하고 붉은색을 땀.
- 요산의 검출 가능한 농도는 5 mM 까지이고 NaClO는 10 mM과 OPD 5 mM 일 때 명확한 색변화 일어날 수 있는 조건을 가짐.
- 대면적에서 스프레이를 사용하여 요산이 5 mM일 때 가장 적합한 조건인 NaClO 10 mM과 OPD 5 mM 순서로 분사함.
- 10초 이내에 색변화를 통하여 요산 검출이 가능함.

■ 실험실 내 환경에서 바이러스 제거 기술 적용

1. 실험실 내 사육 환경에 대하여 바이러스 제거 기술 적용

가. 실험 방법

- 실험실 내 사육시설에서 분변 제거, 세척 및 소독 과정을 통해 바이러스의 제거 효능을 파악
- 사람 유래 바이러스인 A/PR/8/34 바이러스를 사용하여 실험을 진행한다.
- 바이러스 10^8 EID₅₀/ml을 Stainless still disc carrier에 100 μ L를 점적하여 건조 시킨 이후 실험실 내 동물 사육시설에 적용함
- 총 5개의 샘플을 물세척/세척제 사용 세척/소독 여부에 따라 실험군을 나누어 실험함.
- 5개의 샘플은 소독 이후 회수하여 3ml의 DMEM 배지가 담긴 Conical tube에 넣음
- 10일 유정란에 종란 접종을 통하여 각각의 종란에서 혈구 응집능을 확인함.
- 각 샘플 당 5개의 종란에 접종을 하였으며, 혈구 응집능 파악을 통하여 바이러스 분리를 확인함.
- 회수된 바이러스 200 μ l의 RNA를 추출하여 POCKIT Micro DUO를 이용하여 검출을 확인함
- 종란 접종을 통해 전/후 농도를 파악함

	물세척	세정제 세척	소독	농도 (log EID50/ml)	리얼 타임 PCR	POCKIT DUO
Disc Carrier 1	O	O	O	0	32.8	+
Disc Carrier 2	O	O	x	2.66	28.09	+
Disc Carrier 3	O	x	O	1.5	31.05	+
Disc Carrier 4	O	x	x	5.25	24.78	+
Disc Carrier 5	x	x	x	6.5	20.34	+

- 고농도에 해당하는 10^8 EID50/ml을 사용하여서 모든 샘플에서 유전자가 검출이 되었음
- 물세척, 세정제 세척, 소독이 모두 진행된 Disc 1번에 대해서만 종란에서 분리가 안됨.
- 소독이 실시된 1번과 3번 샘플에서 가장 낮은 바이러스 농도를 보임.
- 바이러스 분리가 되지 않더라도 1번 샘플에서 유전자 검출이 확인된 것을 보아, 소독제로 인한 바이러스의 불활화가 일어났지만 유전자는 남아있어 검출이 된 것으로 사료됨.

■ 재입식 매뉴얼 개발

1. 해외 및 국내 농가의 HPAI 대응 방역 및 재입식 매뉴얼 조사

- 해외의 축산 선진국의 경우 고병원성 AI의 발병 여부와 상관없이 항상 높은 수준의 방역태세를 갖추고 있음.
- 또한 몇몇의 국가에서 제시한 차단방역 매뉴얼에는 발생 후 재입식까지의 구체적인 소독방법과 절차에 대해 제시하고 있음.
- 본 연구에서는 미국, 영국, 호+주 등 해외 선진국에서 제시하는 AI 발생 후 재입식까지의 매뉴얼을 조사하고, 국내의 절차와 비교 분석하여 문제점을 제기하고자 함.



가. 미국의 재입식 매뉴얼 조사

1) HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA RESPONSE PLAN: THE RED BOOK

- 미국 농무성(USDA, United States Department of Agriculture)에서 발간하였으며, USDA의 홈페이지를 통해 지속적으로 업데이트하여 최신 가이드라인을 제공하고 있으며 고병원성AI의 발생 시 대응 방법과 재 입식까지의 방법을 제시하고 있음.

- 이 매뉴얼은 Chapter 1. Introduction and HPAI Information, Chapter 2. Framework for HPAI Preparedness and Response, Chapter 3. USDA HPAI Preparedness and Response, Chapter 4. HPAI Outbreak Response Goals and Strategy, Chapter 5. Specific HPAI Response Critical Activities and Tools, Chapter 6. Recovery after an HPAI Outbreak의 총 6장으로 구성되어 있음.

- 이 중 HPAI 발생 후의 대응방법과 재입식 매뉴얼의 내용을 정리하면 다음과 같음.

※ 주요 내용 정리

가) 고병원성 AI(HPAI) 발생 시의 대응목표

- (1) 대응목표는 HPAI를 빠르게 탐지, 제어, 억제하여 가능한 한 빠른 시간에 HPAI를 종식시키고, 나아가서 공중보건 및 환경보호, 축산업의 안정화를 통한 원활한 식량 공급을 추구하는 것임.
- (2) HPAI의 발병 시 APHIS(Animal and Plant Health Inspection Service, 동식물검역소)는 CDC(Centers for Disease Control and Prevention, 질병관리본부)와 필요에 따라 주 정부나 더 작은 지역 단위 수준의 다른 공중방역 보건조직과 조직체계를 이룸
- (3) APHIS는 또한 DOI(Department Of the Interior, 내무부)와 다른 연방, 주정부, 로컬과 연계하여 대응함.

나) HPAI에 대응하기 위한 활동원리와 방법

(1) 역학적 원리

(가) HPAI 바이러스와 감수성이 있는 계군와의 접촉을 막음.

- ① IZ(Infected Zone, 감염지역), BZ(Buffer Zone, 완충지역)과 CA(Control Areas, 통제영역)으로 나누어 비감염 계군과의 접촉을 막음.
- ② HPAI의 감염 위험이 있는 계군은 도태를 진행함.
- ③ HPAI와 접촉한 사람, 동물, 기계류 등은 전파의 매개체가 될 수 있으므로 세척과 소독을 진행.

(나) HPAI 바이러스에 감염되거나 노출된 계군의 생산 중지 및 생산물 폐기.

(다) 적절한 백신이 사용 가능하고, 전략적으로 예방백신을 사용할 수 있다면 HPAI 바이러스에 대한 면역성을 키울 수 있음.

(2) 캠페인을 통해 지역이나 국가, 국제적으로 대중의 인식을 개선

(3) HPAI 발생 후 첫 72시간의 타임라인

(가) 미국에서 HPAI가 발생되면 72시간 동안은 그림1 과 같은 조치가 이루어지며, 기본적인 원리는 신속한 통제와 격리임.

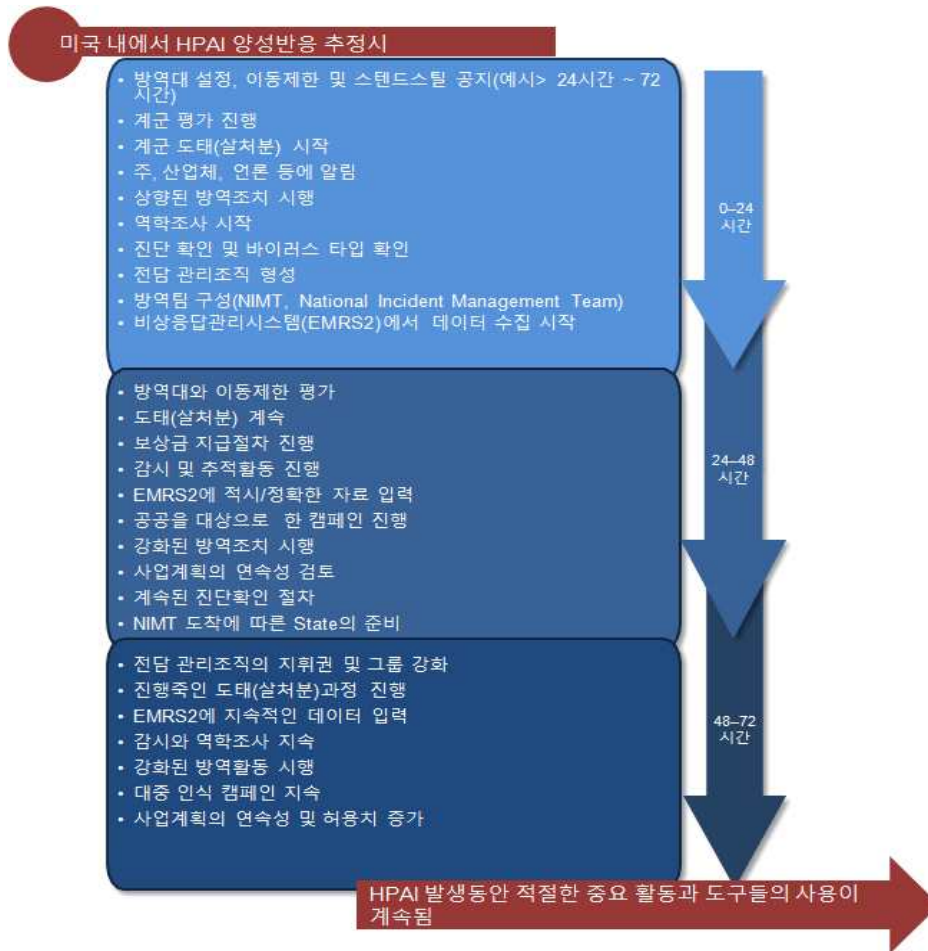
다) HPAI 반응에 따른 활동과 도구들

(1) 임상 증상이나 병리학적 병변이 동반된 감수성이 있는 가검물에서 HPAI 및 LPAI, H5/H7에 대한 실험실적 기준에 준하여 평가함.

(2) 감시는 HPAI 발생 시 중요한 활동 중 하나이며, 다음은 HPAI 발생시 감시를 하는 목적임.

(가) 발생 48시간 이내에 감시계획을 수립.

- (나) 현재 HPAI의 범위를 설정하고, 확인되지 않은 IP(Infection Premises, 감염구역)를 찾아냄.
- (다) 감시체계에 취약한 감수성 있는 야생동물의 수를 고려하고, 감시하기 위해 APHIS WS(Animal and Plant Health Inspection service Wildlife Services, 동식물검역소, 야생동물과) , DOI, 주 야생동물기관 및 주 농업부서와 협력함.



<그림. 미국 내 HPAI 발생 추정시 72시간 타임라인 테이블>

(3) HPAI 의심 및 발병시의 진단

(가) HPAI 감시를 위한 조사 중 의심되는 가검물이 발견될 경우, 첫 번째로 NVSL(National Veterinary Services Laboratories, 국립수의학연구소), 두 번째로는 NAHLN(National Animal Health Laboratory Network, 국립동물보건연구소 네트워크)에 소속된 곳으로 샘플을 발송함.

(나) NVSL에서 influenza A virus와 H5/H7 검사를 rRT-PCR을 이용하여 검사함과 동시에 바이러스 분리를 진행하며, 두 실험 중 바이러스가 검출되면 추가적인 실험을 통해 시퀀싱 또는 IVPI(Intravenous Pathogenicity index, 정맥내 병원성지수)를 확인하여 고병원성/저병원성AI를 확정지음.

(4) 역학조사 및 추적

(가) IC(Incident Command, 사고 현장지휘)은 HPAI 발생 시 적절한 지역(Zone), 영역

- (Area), 구역(Premises)을 설정하고, 역학 상황을 고려하여 설정한 구역을 재평가함.
- (나) 이렇게 설정된 각 지역, 영역, 구역은 격리와 이동제어에 이용됨.
- (다) 각 구역에 대한 정의는 표1 과 같음.
- (라) 각 지역 및 영역에 대한 정의는 표2 와 같음.

<표. 각 구역에 대한 정의>

구역(Premises)	정의	지역
IP (Infected Premises, 감염구역)	양성이 의심되거나 실험실의 결과 양성, 임상증상, HPAI의 양성사례 및 국제 표준에 근거한 양성사례에 의한 양성	IZ(Infection Zone, 감염지역)
CP (Contact Premises, 접촉구역)	감수성이 있는 동물이 HPAI에 직/간접적으로 노출	IZ, BZ(Buffer Zone, 완충지역)
SP (Suspect Premises, 의심구역)	감수성이 있는 동물이 HPAI와 유사한 임상적인 증상이 있는 경우	IZ, BZ, SZ(Surveillance Zone, 감시지역), VZ(Vaccination Zone, 백신지역)
ARP (At-Risk Premises, 위험구역)	감수성이 있는 동물이 존재하나 HPAI와 유사한 임상증상이 없는 경우. 이 구역은 IP, CP, SP가 아니라는 것을 객관적으로 증명. 이 지역만이 MP로 바뀔 수 있음	IZ, BZ
MP (Monitored Premises, 감시구역)	객관적인 증거로 IP, CP, SP가 아님을 증명. 허가를 받아 감수성이 있는 동물이나 제품을 CA 밖으로 이동할 수 있음	IZ, BZ
FP (Free Premises, 청정구역)	CA 외부지역	SZ, FA(Free Area, 청정영역)
VP (Vaccinated Premises, 백신구역)	긴급백신을 실시한 지역으로, 2차로 지정되는 구역	CVZ(Containment Vaccination Zone, 방지 백신지역), PVZ(Protection Vaccination Zone, 예방 백신지역)

표2. 각 지역 및 영역에 대한 정의

지역/영역	정의
IZ(Infection Zone, 감염지역)	IP 주변을 둘러싸고 있는 지역. IP로부터 최소 반경 3km 이상의 지역으로, 발병이 계속되는 경우 재정의됨
BZ(Buffer Zone, 완충지역)	IZ나 CP를 둘러싸고 있는 지역. IP로부터 최소 반경 7km 이상의 지역으로, 발병이 계속되는 경우 재정의됨
CA(Control Area, 통제영역)	IZ와 BZ로 구성된 영역. IP로부터 최소 반경 10km 이상의 지역으로, 발병이 계속되는 경우 재정의됨
SZ(Surveillance Zone,	CA의 경계지역. FA를 구성하는 지역 중 한 지역. 폭은 최소 10km

감시지역)	이상이지만 더 클수도 있음
FA(Free Area, 청정영역)	CA를 포함하지 않은 지역. SZ를 포함하는 지역
VA(Vaccination Zone, 백신지역)	전형적으로 CA 안에서 확산을 방지하기 위한 긴급백신을 시행한 지역과 CA 밖의 예방백신을 시행한 지역. 2차로 지정되는 지역

(5) 방역을 위한 세척 및 소독

- (가) 유기물과 무기물에서의 HPAI 바이러스 생존율이 높기 때문에 IP에서의 HPAI 바이러스 제거를 위한 강한 세척과 소독이 필요함. HPAI를 제어하고 제거하기 위해서는 세척 및 소독 단계가 요구됨.
- (나) 세척이란 시설과 구조물에 있는 오염물, 유기물 등을 제거하는 것이며, 스위핑(건식 청소) 또는 비누와 세제를 이용한 물세척(습식 청소)을 통해 진행됨. 남아있는 유기물을 최소화시켜 소독이 효과적으로 수행될 수 있게끔 하는 것이 목적임.
- (다) 소독은 물리적 방법(열)이나 화학적 방법(소독제)를 이용하여 HPAI 바이러스를 파괴하거나 제거하는 것이며, 때로는 두 가지 방법이 병행되기도 함. 모든 소독제는 EPA(Environmental Protection Agency, 환경보건국)에서 AI를 위한 소독제로 공인된 소독제를 사용하여야 하며, 그 밖의 소독제를 사용하는 것은 불법임.
- (라) 세척과 소독은 비용을 감안하여 효과적인 방법으로 바이러스를 제거하는 것에 초점을 맞춰야 함. 과거에는 습식 세척과 소독이 시행되었지만, HPAI가 확산되면서 건식 세척과 열을 이용한 방법이 바람직한 접근법일 수도 있음. 바이러스 제거를 효과적으로 하기위해 각 소독 및 세척 방법의 특성에 맞게 사용해야 함. 예를 들면, 겨울철에 열을 이용한 소독법은 올바르지 않음.

라) 이전 감염지역에서의 재입식

- (1) 감염 지역에서의 HPAI 바이러스 제거가 완료되었다는 전제 하에 재입식 과정이 진행됨. 재입식 진행 결정은 HPAI가 발생된 지역, 역학, 정부 지침의 매뉴얼 등의 많은 요소들에 의해 결정되며, HPAI 종식선언 전에는 IC에 의해 IP가 재설정 될 수도 있음. HPAI 대응의 주된 목표는 효과적으로 HPAI에 대해 조치하여 확산의 위험성을 줄이고 추가적인 발생을 막는 것임.
- (2) 재입식 전에 환경샘플링이 요구되며, 일반적으로, 바이러스 제거가 완료된 시점으로부터 21일의 휴지기간을 가져야 한다. 샘플링은 PPE(Personal Protective Equipment, 개인보호장비) 착용하고 생물보안절차를 따라 IC의 통제에 의해 진행되어야 함. 주와 APHIS 공무원은 환경온도와 발생역학 등을 확인하여 환경 샘플링의 진행 여부를 판단함.
- (3) 공식 승인된 바이러스 제거를 위한 세척과 소독 절차를 지키고 IP는 최소 21일의 휴지기간을 거쳐서 바이러스를 제거시킨다. 환경 온도나 소독 완료 후 경과시간, 소독방법, 위험평가 등을 통하여 IC에서 21일보다 기간을 줄일 수 있지만, 일반적으로 HPAI 바이러스 제거절차를 마친 후 21일이 일반적인 기준임.
- (4) 재입식 승인을 위해서 발생농장은 우선적으로 모든 검역조건을 충족시켜야 하며, 최소기간 이상 휴지기를 가져야 하며, 환경 샘플링에서 HPAI바이러스가 검출되지 않아야 함. 모든 조건이 충족되었을 때 재입식을 승인하지만, 경우에 따라서는 IC나 주, APHIS 공무원이 추가적인 기준을 부과할 수 있으며, 요구조건은 주마다 다를 수 있음.
- (5) 재입식을 하는 계군은 HPAI 검사를 받은 후 입식하며, 이 검사는 24시간 간격으로 rRT-PCR을 2회 이상 음성판정을 받아야 하며, 이동 후 1회의 검사를 통한 음성 판정을 받아야 하며, 주나 APHIS 공무원에 의해 추가 실험을 진행할 수도 있음.

2) APHIS에서 제공되는 재입식 가이드라인

- APHIS의 홈페이지에서 가이드라인 형태로 AI 발생 후의 대처방법에 관련된 정보를 제공하고 있으며, 1. Control area release(통제 영역 해제), 2. Timeline, eligibility, and approval for restocking(발생 후 재입식까지의 절차), 3. Post C&D environmental sampling guide(세척과 소독 완료 후 샘플링 방법)등의 문서를 제공하고 있음.

※ 주요 내용 정리

가) Control Area Release(Sep 18, 2015)

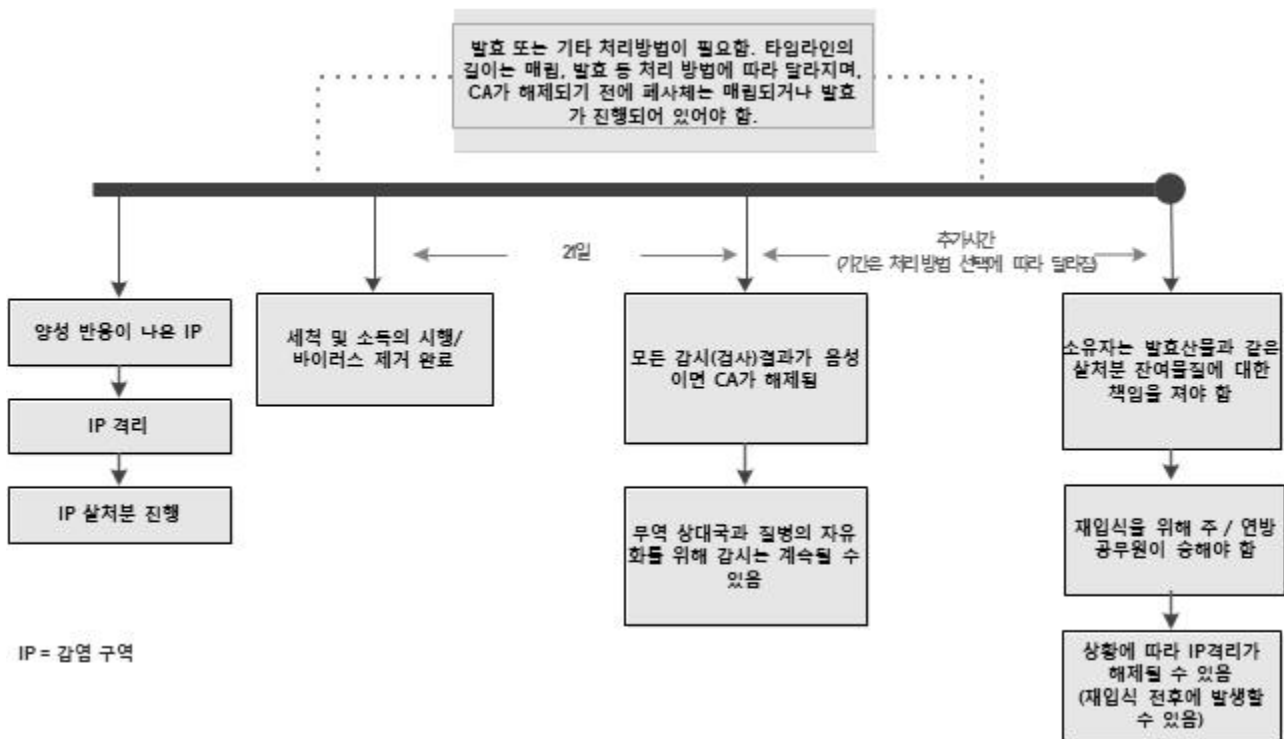
(1) 영역 통제 및 이동제한 통제는 감염구역의 소독 및 모든 모니터링 결과가 음성 판정 이후 최소 21일이 경과할 때 까지 유지됨. 아래 그림3은 HPAI 발생 후부터 CA가 해제되는 타임라인을 나타낸 그림임.

(2) OIE(World Organization for Animal Health, 국제수역사무국)에서 HPAI의 종식을 공식적으로 인정하지는 않지만 미국은 스스로 HPAI의 종식을 선언할 수 있고 그에 맞는 증거들을 OIE에 제출함으로써 HPAI의 종식을 증명할 수 있음.

나) Timeline, Eligibility, and Approval for Restocking(March 30, 2016)

(1) 이 가이드라인은 HPAI 발생 후 재입식을 위해 SAHOs(State Animal Health Officials, 주 동물 보건 사무국)와 APHIS, IMTs(Incident Management Teams, 사고관리팀)에게 제공되며, 재입식까지 충족시켜야 하는 최소 휴지기 및 절차 등이 포함되어 있음. 그림4는 계사 내 발효 방식에 대한 타임라인이며 그림5는 계사 외부 발효 방식에 대한 타임라인이다. 그림 6은 계사 내부/외부 혼합 방식이며, 발효 과정 완료 후 발효 산물을 모두 제거하고 세척/소독을 완료한 후에 샘플링을 진행함.

(2) 감염계군을 매몰하는 경우에는 매몰 완료 후 세척/소독을 완료한 뒤에 샘플링을 진행하며, 그림7은 매몰 방식을 사용하였을 때의 타임라인임.



IP = 감염 구역

<그림. CA가 해제되기 까지의 타임라인>

그림 4. 계사내부 발효 시 타임라인

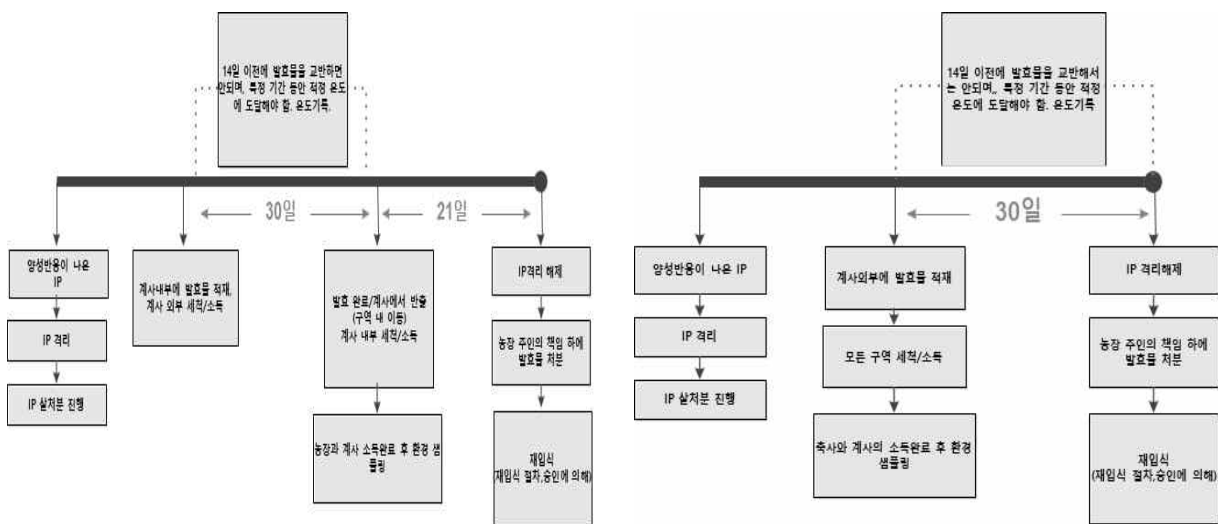
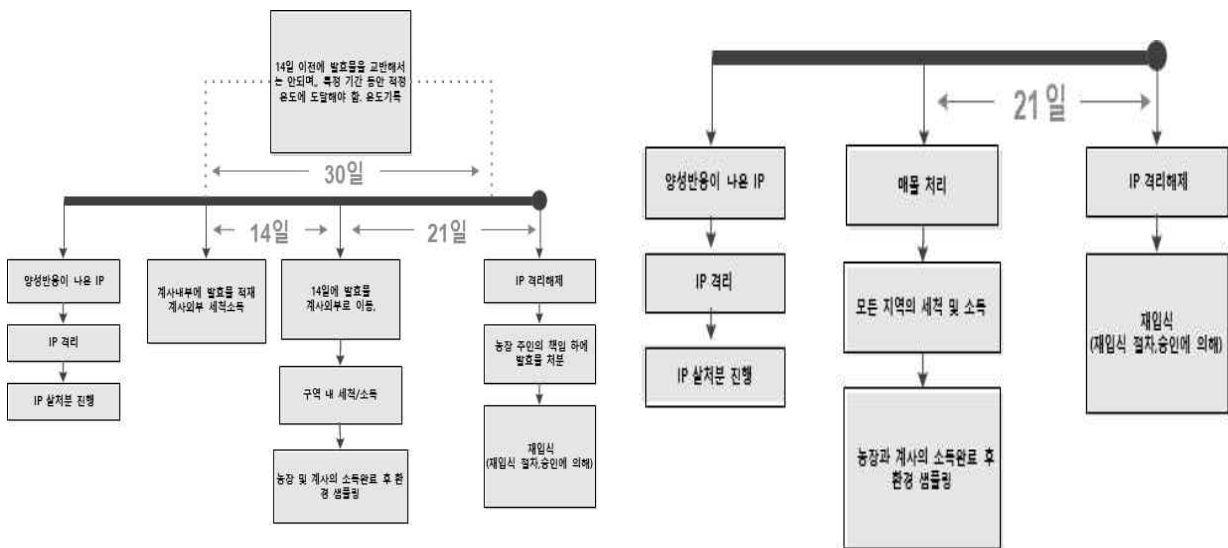


그림 5. 계사외부 발효 시 타임라인



<그림 내/외부 혼합방식 발효 시 타임라인>

<그림 7. 매물 방법의 타임라인>

- (3) HPAI 발생지에서의 재입식은 두 가지 평가를 거친 후 승인됨.
 - (가) 측사에 대한 환경 샘플링 결과
 - (나) 감염 우려가 있는 주변 지역이나 CA에 대한 평가. 평가 내용은 지리적 위험요소, 역학적 위험 요소 등이 포함됨.
- (4) 구역 내 바이러스 제거를 완료하고 평가가 완료되면 재입식을 할 수 있는 상태가 되지만, 승인이 된 것은 아니며, 승인을 받기 위해선 세 가지 기준을 모두 충족해야 함.
 - (가) 주 검역관의 공지 혹은 요청사항, USDA의 Flock plan
 - (나) 본 문서에 명시된, 처리방법에 따른 처리기간, 환경 샘플링 후 HPAI의 미검출
 - (다) 주의 동물보건 사무국과 협의하여 세척/소독이 끝나고 21일의 휴지기를 갖는 시점에 위험성을 평가함
- (5) 재입식을 할 수 있는 상태가 완료되면 주정부와 APHIS에서는 재입식을 승인할 준비를 하는데, 몇 가지의 추가적인 방역적인 요소들을 점검한 후 재입식을 승인함. 주 정부별로 요구사항이 상이할 수 있음. 주정부/APHIS의 요구사항이 모두 충족되면 CA 평가 후 재입식 승인이 됨.
 - (가) 농장 내/외부와 측사 내/외부의 세척 및 소독절차
 - (나) 측사에서만 입을 수 있는 의복을 포함한 대인방역조치
 - (다) 측사 시설물 주변의 방조/방제장치
 - (라) 야생조류나 배설물에 의해 사료와 물이 오염되지 않도록 조치
 - (마) 야생동물을 끌어들일 수 있는 사료의 유실 혹은 우물 등 환경적인 요소들의 제한
 - (바) 비필수적인 인원의 출입금지
- (6) 재입식을 위한 계군은 HPAI 음성 판정을 받은 계군에서 가지고 오며, 이동 전 24시간 간격으로 2회 rRT-PCR 검사결과가 음성이어야 하며, 이동 후 24시간 이내 1회 검사결과 음성이어야 함.

다) Post C&D environmental sampling guide

- (1) 이 가이드라인은 HPAI 발생 후 재입식을 위해 SAHOs(State Animal Health Officials, 주 동물보건 사무국)와 APHIS, IMTs(Incident Management Teams, 사고관리팀)에게 제공되며, 샘플링시에는 개인보호장비와 같은 생물학적 안전조치를 취한 후에 온도측정, 샘플링 등을 진행함.
- (2) 샘플링 및 처리절차
 - (가) 월~수요일 중으로 샘플 검사 의뢰를 예약함(금요일에 샘플이 도착하면 주말동안 검사가 이루어 지지 않아 세균오염 등 검사의 오류가 있을 수 있음. 특정 일정 및 공휴일에 대해서는 NAHLN에 문의 후 진행)
 - (나) BHI 용액을 4℃로 유지시켜 보관하며, 얼리면 안됨.
 - (다) 깨끗한 튜브에 보관된 BHI용액과 4 X 4 크기의 거즈를 이용(작고 샘플링이 어려운 지역은 면봉을 이용)하여 충분히 적심 - 샘플링 후 용액이 충분히 들어있는 튜브에 넣어서 수송(e.g. 50ml 코니칼 튜브에 10ml BHI용액을 채운 후 샘플을 보관, 이동), 마른 패드나 면봉으로 샘플링은 금지함.
 - ① 대체품으로 깨끗한 지퍼백이나 포장/밀봉가능한 용기를 이용하여 샘플링을 수집할 수도 있음.
 - ② 면봉으로 시료채취를 한 경우에는 BHI용액과 잘 섞어준 뒤 면봉에 스며든 배지를 모두 짜낸후 면봉은 적절한 용기에 담아 폐기하고, 짜낸 배지를 실험에 이용함. 샘플 튜브 안에 면봉이 있으면, 면봉에 배지가 흡착되어 부정확한 실험결과가 도출될 수 있음.

- (라) 계사마다 최소 10군데 이상의 장소에서 샘플링 진행. 시설물이 다양하기 때문에 샘플링을 시행하는 사람은 각 시설물마다 적절한 샘플링 장소를 결정하는 것이 중요하며, 좋은 샘플링 장소로는 자주 접촉하는 장소(스위치, 전기패널, 문손잡이), 바닥, 벽, 배기팬 또는 가금의 분뇨 및 구강 분비물 등임. 산란 시설의 경우는 케이지나 분뇨 처리와 관련된 곳이나 알 처리에 관련된 장소의 표면을 샘플링 하는 것이 좋음. 칠면조의 경우에는 음수 설비, 프레임 등에서 샘플링함.
- (마) 각 샘플링된 튜브에는 날짜, 계사번호, 시료번호를 기입하며, 한 튜브에 한 번의 라벨링만 함.
- (바) 튜브 외부를 소독하고 실험의뢰서에 기재된 라벨링과 샘플이 동일한지 확인
- (사) 농장명과 구역ID를 기록
- (아) 냉각보존제와 샘플, 실험의뢰서를 동봉하여 NAHLN 실험실에 최대한 빨리 전달
- (자) NVSL에서 제공하는 세척/소독 후 환경 샘플링에 대한 검사방법을 참고하여 검사 후 결과 통보

3) STANDARD OPERATING PROCEDURES : 15. CLEANING AND DISINFECTION

- USDA에서 세척과 소독에 관련된 부분을 제시한 SOP이며, 내용을 요약하면 다음과 같음.

※ 주요 내용 정리

가) 일반적인 세척과 소독의 시행 전에는 다음과 같은 단계를 거쳐서 진행함.

- (1) 적절한 개인보호장비를 착용함.
- (2) 작은 장비나 작업자를 위한 적절한 살균소독기를 선택함.
- (3) 세척 시 고장날 수 있는 장비를 제거함.
- (4) 곤충 및 바이러스 전달 매개물의 적절한 제어.
 - (가) 죽은 설치류나 벌레를 적절한 방법으로 처리.
 - (나) 축사 안으로 야생동물이나 설치류가 진입할 수 있는 통로를 제거함.
- (5) 세척을 위한 전원공급장치를 확보.
- (6) 바이러스의 분산을 막기 위해 환기를 제어.
- (7) 모든 배수통로를 밀봉하고 소독함.
- (8) 세척과 소독을 위해 가능한 경우 급수 및 급이장치를 분해함.
- (9) 건식 세척; 습식 세척; 소독 등을 진행함
- (10) 다음의 체계적인 절차를 통해 세척/소독을 진행
 - (가) 시설의 뒤편에서 시작하여 앞으로 진행
 - (나) 항상 천장을 시작으로 벽면, 바닥 순으로 진행
- (11) 청소 및 소독에 사용된 장비와 기구를 모아서 세척하고 소독함. 표면을 젖게 유지하여 소독 약이 충분히 접촉할 수 있도록 함.
- (12) 훈증 소독을 진행한다면 청소/세척 단계를 거친 후에 계사를 밀봉함.

나) 청소 방법

- (1) 건식 세척
 - (가) 삽이나 브러시와 같은 장비를 이용해 표면의 유기물질 또는 잔해를 긁어내어 청소하는 방법.
 - (나) 다음의 단계를 참고하여 세척함.
 - ① 바닥이나 벽면 등 표면에 남아있는 유기물을 최소화함.

- ② 젖은 유기물은 감염성 물질을 다량으로 함유하고 있기 때문에 확실하게 건조시킨 후에 제거함. 건조하는 방법은 바이러스를 파괴하고 제거하는 효과적인 방법임.

(2) 습식 세척

- (가) 표면의 유기물을 제거한 후에 세제를 이용하여 세척함. 세척과정은 미생물 및 바이러스의 수를 줄이고 소독약품의 작용을 저해하는 유기물질을 줄이는데 효과적임.

- (나) 다음의 단계를 참고하여 세척함.

- ① 세척을 위해 전원을 차단한 경우라면 세척장비의 전원공급장치를 연결함.
- ② 모든 전기 장비의 전원을 끄고, 플러그를 뽑고, 방수처리함.
- ③ 필요한 경우 브러쉬를 이용하여 오염된 표면을 물과 세제를 이용해 세척함. 온수를 사용하면 유기물을 제거하는데 효과적이며, 청소 후에는 흡과 오염물질이 없어야 함.
- ④ 따뜻한 물(32 - 54℃)을 사용.
- ⑤ 급이/급수 시스템을 배수, 세척, 살균하고 가능하면 모두 분해하여 유기물을 제거함.
- ⑥ 환기장비는 팬, 케이스, 모터, 벨트, 커튼 등등 모두 분해하여 개별적으로 세척/소독을 진행하고 축사 내 모든 장비는 세척/소독을 함.

(3) 행금과 건조

- (가) 세척 후 세제의 성분이 소독제의 활성도를 떨어뜨릴 수 있으므로 완전히 행구어야 함.

- (나) 다음의 단계를 참고하여 행금과 건조를 진행함.

- ① 깨끗하고 차가운 물을 사용하여 세척 후 잔유물을 제거함.
- ② 표면을 육안으로 확인하여 이물질의 유무를 확인.
- ③ 행금수를 적절한 방법으로 처리함.
- ④ 표면에 수분을 충분히 건조(하룻밤).

다) 소독 방법

(1) 일반 소독제를 사용한 소독

- (가) 소독제의 적절한 희석배율은 효과적인 소독과 작업자의 안전을 위해 중요함.
- (나) 소독제의 보관방법 및 유통기한 등을 확인하고, 소독제를 다룰 때는 반드시 개인보호구를 착용함. 필요한 소독제의 양을 계산하여 소독제를 희석함. 저온에서는 소독제의 효과가 떨어질 수 있기 때문에 난방이 필요한 경우도 있으며, 소독제를 희석한 후에는 당일 모두 희석액을 사용할 수 있도록 함.

(2) 습식 소독 절차

- (가) 세척이 끝난 축사의 소독은 위에서 아래로, 뒤에서 앞으로 소독제를 도포함.
- (나) 소독제의 종류에 따라 오염된 표면에 소독제를 도포하고, 적절한 접촉 시간을 확인하여 충분히 소독되도록 하며, 소독 후에는 동물에게 해를 끼칠 수 있으므로, 충분히 물로 행구고 건조함.

(3) 열을 이용한 바이러스 제거

- (가) 젖은 소독제를 이용해 바이러스를 제거하는 방법이 일반적으로 사용되지만, 미국에서 HPAI 발생 시 건식 세척 후 열처리를 통한 방법이 비용적인 면에서 효율적인 방법으로 이용되었음.
- (나) 열처리 방법은 모든 상황에서 사용가능한 방법이 아니기 때문에 상황에 맞게 사용해야 하며, 주정부의 방역담당자와 APHIS의 승인 후 적용이 가능함.
- (다) 총 7일 동안 100°F - 120°F 의 온도를 유지하며, 연속 3일은 가열하여야 함. 구조물의 손상을 피하기 위해 120°F를 초과해서는 안됨.

나. 호주의 재입식 매뉴얼 조사

1) Australian Veterinary Emergency Plan : Disease Strategy Avian Influenza

- AUSVETPLAN에 의해 규정된 이 문서는 호주에서 EAD(Emergency Animal Disease)로 규정된 가축의 질병에 신속하게 대응하기 위해 전국적으로 역할, 책임, 정책 및 전략, 절차를 문서화했으며, 효과적으로 호주 전역에 일관성있게 활용할 수 있도록 정부와 관련 산업체가 개발 및 합의 함.

- 이 매뉴얼은 Avian Influenza에 관련된 문서를 조사했으며 Content 1. Nature of disease, Content 2. Principles of control and eradication, Content 3. Policy and rationale, Content 4. Recommended quarantine and movement controls 등 총 4개의 Content로 구성되어 있음.

- 이 중 본 연구와 관련된 내용인 HPAI 발생 후 대응방법과 재입식까지의 내용은 다음과 같음.

※ 주요 내용 정리

가) HPAI의 제어와 근절을 위한 원칙

(1) IP(Infected premises, 감염구역), SP(Suspect premises, 의심구역), DCP(Dangerous contact premises, 위험 접촉구역)의 설정

(가) IP를 격리하여 구역 내 감염된 가금이나 제품, 및 원료의 출입을 차단, 질병의 확산을 방지 함. 확산 속도를 늦추고 역학 상황을 판단하기 위해선 가능한 한 빨리 격리 조치를 진행하는 것이 중요

(나) 감염확산 정도가 확인될 때까지 SP와 DCP의 격리조치를 유지해야 함. real-time PCR과 direct antigen test 같은 신속한 진단 기술은 감염의 정도를 신속히 판단하는데 많은 도움이 됨

(2) 격리와 이동 통제

(가) HPAI는 살아있는 새들과 각종 매개물을 통해 쉽게 전염되므로, 바이러스에 감염되었을 수 있는 새들의 움직임을 엄격하게 통제하는 것은 필수이며, 감염 의심지역의 엄격한 격리 조치를 통해 실현가능함. 농장이나 동물원 등 모든 시설에 해당되며, 감염이 확인된 장소의 사람과 그들이 착용했던 옷, 신발을 포함하여 모두 격리조치 되어야 함.

(나) 효과적으로 구역을 격리한 후에는 보호복을 입은 공인된 작업자만 출입할 수 있도록 상시 보안이 필요함.

(다) 예외적인 상황 이외에는 이동승인 허가서를 발급받지 않을 경우 이 지역 구역 내에서는 이동이 금지되며 오염제거/살균 후 허가 하에 이동이 가능함. 차량과 사람의 이동을 통제하고, 방조작업이 진행됨. DCP는 OIE에서 규정된 잠복기인 21일 동안 이동이 제한됨.

(라) RA(Restricted area, 제한영역)은 IP, SP, DCP를 포함해야 하며, 감수성이 있는 가금류와 제품, 깔집, 장비, 사료, 차량 등을 제한함으로써 확산을 방지하는데 도움이 됨. RA 주변의 CA(Control Area, 통제영역) 설정은 RA 내에서의 HPAI 발생 및 확산을 제어하는데 효과적임.

(마) RA는 IP로부터 1 - 5km 반경으로 설정되며, DCP와 SP를 포함하고, 2 - 10km 반경으로 RA를 둘러싸아 CA를 설정함. CA는 RA와 청결지역 사이에 완충 장치를 형성함.

(3) 역학추적

(가) 결정적 시점(Critical date)은 바이러스가 IP에 유입 가능성이 있었던 가장 빠른 날짜로 지정되며, OIE에서 제시한 최대 잠복기인 21일과 일치해야 함. 비정상적인 폐사가 발견된 시점부터 21일 전부터 가금의 이동, 계란, 비료, 폐기물 등의 움직임을 추적해야 함. IP에서 비정상적인 폐사가 발견된다면 사료, 장비, 사람들의 이동경로를 추적하고, 3일간 감염 여부를 모니터링 해야함.

(나) 사료공급, 백신, 가금관리자, 유통상, 수의사 등은 인터뷰를 진행하고 SP나 DCP 방문했다

면 3일 동안 연락 가능하도록 그들의 가지고 있는 모든 연락수단을 조사해야 함. 가장 최초로 유입되었을 가능성이 있는 근원을 추적해야 함.

(4) 감염된 가금의 처리

- (가) 치료 후의 예후는 좋지 않음. 효과적이지도 않고 부적절하며, 시도하지 않는 것이 좋음.
- (나) 인도적인 방법으로 처리해야 하며, 살처분 시 축사를 밀폐하여 바이러스가 외부로 방출되는 것을 방지하고, 깃털을 포함한 바닥을 소독하는 것은 바이러스 확산을 감소시켜줌. 가스 살포를 하는 방법은 축사의 구조, 높이 등 환경조건을 살펴보고 진행해야 함.
- (다) IP 내에서 처리가 이루어져야 하지만 특정 지역 내 다수의 발생농장이 있는 경우에는 외부에 매립을 하는 방법도 고려해야 함. 소각은 좋은 처리방법이지만 IP 근처에 소각장이 없을 수도 있으며, 수용하기에는 너무 작은 것이 대부분임. 발효는 가장 효과적인 방법이고, 창고 안이나 고정된 지역에서 발효가 이루어지기 때문에 바이러스가 퍼질 위험성도 적음.

(5) 오염제거

- (가) 감염성 물질을 제거하기 위한 세척과 소독 절차로, 오염된 음수를 pH 2.5로 산성화시키며, 차아염소산염에 의한 염소처리 혹은 이산화염소에 의한 산화를 통해 수원지로부터의 바이러스 전파를 방지함.
- (나) 바이러스는 4℃에서 35일간 생존할 수 있으므로, 깔집의 표면을 신속히 소독하고, 발효 절차를 통해 발생하는 열로 바이러스를 불활성화 시키는 등의 조치를 취해야 하며, 기구류나 장비등 오염된 것은 오염을 제거하거나 가능하면 폐기함.
- (다) 효과적인 소독제에 대해서는 표 3과 같음.

표3. 소독 대상에 따른 효과적인 소독제의 종류 및 소독방법

소독 대상	소독방법 / 소독제의 종류
살아있는 가금	안락사
폐사체	매립, 소각, 렌더링, 퇴비화
계란	차아염소산나트륨
축사	계면활성제, 차아염소산나트륨, 차아염소산칼슘, 버콘, 알칼리성 소독제(가성소다), 글루탈알데하이드
대인	계면활성제, 버콘(피부에 닿지 않도록 주의)
전자장비	포름알데하이드(훈증)
음수(탱크)	방류함
음수(댐)	가능한 경우 방류함
사료	매립
분뇨	매립 혹은 소각, 산성 소독제(염산, 구연산), 알칼리성 소독제(가성소다)
기숙사	계면활성제, 차아염소산나트륨, 차아염소산칼슘, 버콘
기계, 차량	계면활성제, 알칼리성 소독제(가성소다)
의류	계면활성제, 차아염소산나트륨, 차아염소산칼슘, 버콘, 알칼리성 소독제(가성소다)

(6) 감시와 재입식을 위한 평가

- (가) 적절한 세척과 소독이 완료되고, 21일이 지난 후에는 재입식이 가능함.

2) Australian Veterinary Emergency Plan : Operational Procedures Manual Decontamination
 - AUSVETPLAN에 의해 규정된 이 문서로, 오염 제거에 관련된 부분을 제시하였으며, 요약하면 다음과

같음..

※ 주요 내용 정리

가) 예비소독

- (1) 예비소독의 목적은 오염된 지역에서의 확산 가능성을 억제하는 것이며, 병원체가 공기 중으로 전파가 가능하다면 반드시 시행해야 함. 세척이 시작되기 전까지 진행되며, 도로 및 감염 위험이 있는 물질이 있는 장소에 주의를 기울여 진행함
- (2) 살처분 장소는 매일 5회 이상의 정기적인 소독을 진행해야 함.
- (3) 질병 확산을 방지하기 위해 설치류를 제어해야 함.

나) 세척

- (1) 세척의 기본은 사료나 먼지, 이물질 또는 오염된 모든 물품을 제거하는 것이 목적임. 유기물이 있을 경우 소독제의 효과를 감소시키기 때문에 가능한 한 모든 축사의 장비, 시설물을 해체하여 유기물을 제거함.
- (2) 모서리나 벽면 접점 부분의 유기물에 특히 주의하여 세척하며, 물이나 세제, 스팀 등을 이용하거나 긁는 등의 방법으로 제거함.
- (3) 표면의 모든 유기물을 제거한 후 고압수를 이용하여 세척하며, 세척 후에는 오염물질이 보여서는 안됨.

다) 첫 번째 소독과 점검

- (1) 첫 번째 소독은 물리적 또는 화학적인 방법을 사용하여 병원균을 비활성화 시키는 것이 목적이며, 적절한 소독제를 사용해야 함. 지붕, 벽, 바닥 순서로 소독이 이루어져야 하며, 소독 후 다시 오염되지 않도록 주의를 기울여야 함.
- (2) 적절한 희석배율로 소독하는 것이 중요함.
- (3) 목재와 같은 세척 및 소독이 불가능한 모든 오염된 물질을 완전히 폐기하고, 모든 시설물을 분해하여 유기물을 제거하였으며, 표면에 육안으로 관찰가능한 오염물질이 없는지를 점검함.
- (4) 오염된 사료 등을 폐기하고, 소독수는 배수구 또는 정화탱크로 이동되어 적절히 처리됨을 점검.

라) 두 번째 소독과 점검

- (1) 오래되고 균열이 있는 콘크리트 건물이나 낡은 건물 사이에 잠재적인 위험성이 있는 오염물질을 고려해야 함. 필요에 따라서 2차소독 전에 보수를 해야 하며, 소독 완료 후 약 14일 이후에 2차소독을 진행함. 1차소독의 방법을 반복하여 시행.
- (2) 첫 번째 점검과 같은 방식으로 점검하며, 의심스러운 경우에는 재소독을 진행함.

다. 영국의 재입식 매뉴얼 조사

1) Notifiable Avian Disease Control Strategy for Great Britain.

- 영국 DEFRA(Department of Environment Food and Rural Affairs, 환경식품농무부)에 의해 2018년 8월에 개정된 이 문서는 영국 내에서 통제되고 근절하기 위한 조류 질병에 대한 행동 지침을 제시하였음.

- 구성은 Content 1. Foreword and introduction, Content 2. Definitions of Notifiable Avian Disease, Content 3. Maintaining disease freedom, Content 4. Heightened risk of incursions of notifiable avian disease into Great Britain, Content 5. Suspicion of notifiable avian disease in Great Britain, Content 6. Confirmation of a case of notifiable avian disease in Grate Britain, Content 7. Actions at infected premises, Content 8. Tracing and contact premises, Contents 9. Disease control zones, Contents 10. Derogations, Content 11. Emergency Vaccination,

Content 12. Avian influenza: pigs and other mammals, Content 13. Highly pathogenic avian influenza H5N1 in wild birds, Content 14. Exiting from movement restrictions로 이루어져 있고, 이중 본 연구와 관련된 내용을 정리하면 다음과 같음.

※ 주요 내용 정리

가) 감염 지역에서의 행동지침

(1) 가금의 살처분

(가) 질병 확산을 방지하기 위해 병원체 확산 위험을 최소화 하는 방향으로 최대한 빨리 살처분이 이루어져야 함. 살처분되는 조류의 동물복지 문제는 중요한 고려사항이며, 엄격한 법적 통제대상임.

(나) 숫자가 많을 경우에는 컨테이너형 가스 공급장치나 계사 전체 가스살포(계사가 적절하고 기술이 가능할 경우)를 통한 살처분이 이루어져야 하며, 숫자가 적은 경우에는 경추탈골이나 전살법 등을 이용해 살처분을 진행함.

(2) 처리문제

(가) AI 발생 시 살처분 및 가금류의 렌더링 처리는 즉시 시행되어야 하며, IP에서의 이동은 이동 승인서를 발급받은 후에 이동해야 함.

(나) 감수성 있는 가금육과 종란, 계란, 그리고 살처분 전의 폐사축 등은 축주의 책임 하에 처분해야 하며, 생물학적으로 안전한 방식으로 처리되어야 함.

(3) 예비 세척 및 소독

(가) 처음(예비) 세척과 소독은 APHA(Animal and Plant Health Agency, 동식물검역소)에 의해 시행되고 정부에서 지원함. IP에서 감염된 가금이 살처분되면 바이러스 생성은 중단되지만 배설물 및 수분이 있는 표면 등에서 몇 달 동안 생존 가능하므로, APHA에 따라서 소독제를 살포함.

(나) 건물의 모든 부분, 농장에서 사용한 모든 장비, IP에 남아있는 모든 오염물질(깔집 등), 살처분 중에 오염된 모든 것에 대해 소독제를 살포해야 함.

(4) 구역 제한해제(및 최종 세척 및 소독)

(가) 예비 세척 및 소독이 끝난 후에도 IP에는 전염성 질병 바이러스(HPAI)가 여전히 생존하고 있으므로 지역의 통제는 계속됨. 최대한 빠른 재입식을 위해 세척과 소독을 진행함.

(나) 2차 세척 및 소독에는 세척, 탈지, 소독의 절차를 진행하고, 1주 뒤 재반복하여 바이러스를 제거함. APHA의 평가를 완료하면 21일 후 APHA의 승인 하에 재입식이 가능함. 2차 세척과 소독이 완료되거나 1차 소독일로부터 최소 12개월이 경과하기 전까지는 재입식을 진행할 수 없음.

(5) 살처분 지역에서의 재입식

(가) 상업용 가금류의 재입식은 최종 세척과 소독이 완료되고 APHA의 승인이 완료된 후 21일 이내에는 허용되지 않음. 지역의 통제는 질병의 재발이 더 이상 없을 때까지 유지됨.

(나) 재입식 후 21일 동안 APHA의 수의사에 의해 공식적인 검사를 받게 되며, 실험실 결과를 위해 샘플링을 진행함. 임상적으로 감염의 증거가 없고 채취한 모든 샘플의 경우 질병에 대한 음성 결과일 경우에 입식제한이 해제됨.

(6) 구역설정

(가) H5N1일 경우 PZ(Protection Zone)는 3km, SZ(Surveillance Zone)는 10km 반경이 설정되고,

(나) PZ는 IP의 처음 세척/소독이 끝난 시점으로부터 최소 21일 유지되며, SZ는 30일이 유지됨.

(다) RZ(Restricted Zone)은 유연성 있게 설정 가능하지만, EC(European Commission, 유럽 집행위 원회)에서 검토하고 승인함. RZ의 크기는 역학 상황을 근거로 설정됨. 그간 영국의 사례와 경험 으로 비추어봤을 때 H5N1을 제외한 다른 HPAI는 RZ가 설정되지 않음.

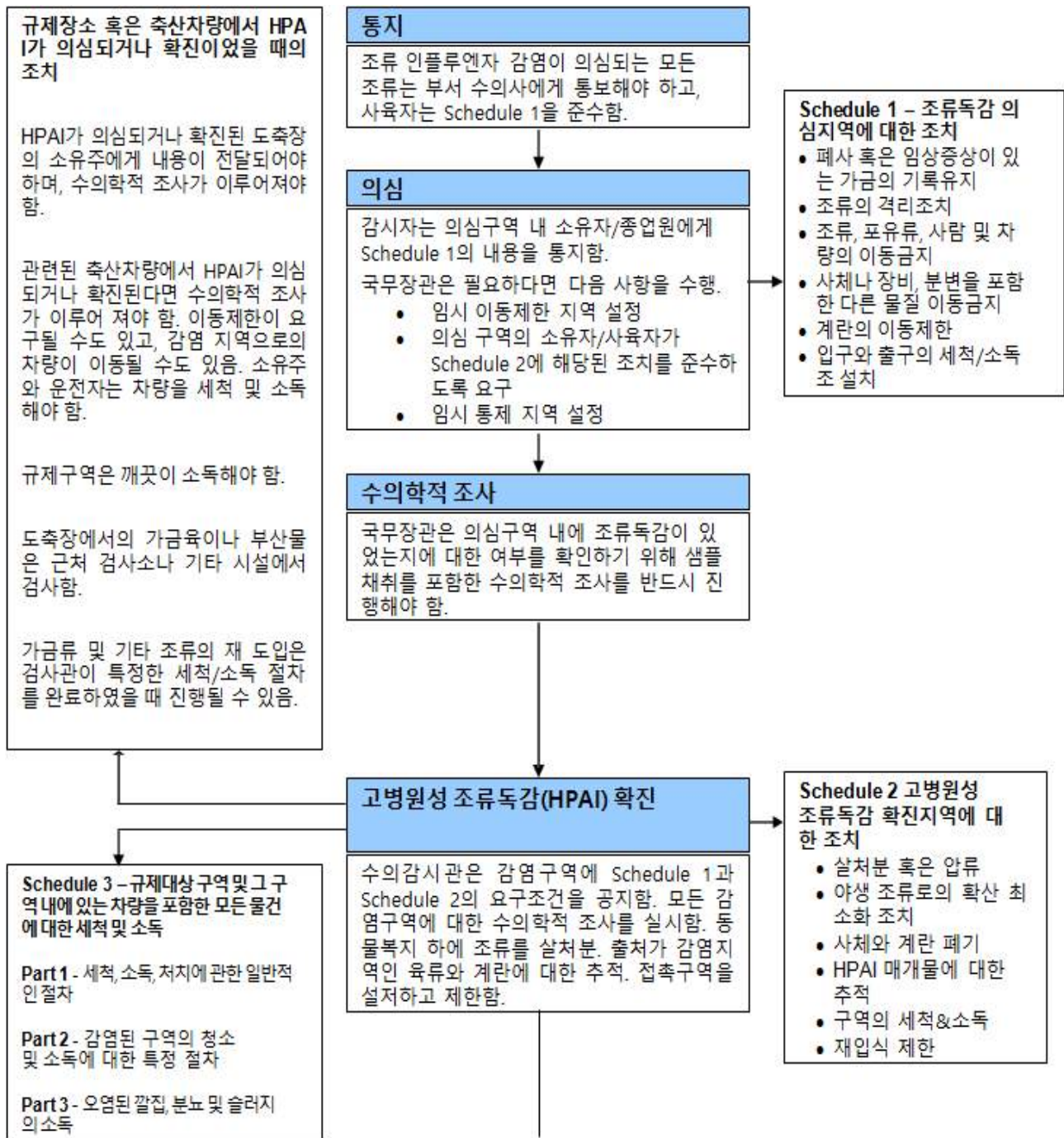
2) DCC Generic Notifiable Animal Disease Contingency Plan : Annexe A, Avian Influenza(HPAI)

- 영국의 Devon County Council에서 HPAI와 같은 질병이 발병하였을 때 지방 당국에서 의무적으로 조치하여야 할 내용을 정리한 문서임. HPAI 발생 시 질병 통제 조치에 대한 내용을 제시하였으며, 요약한 내용은 다음과 같음.

※ 주요 내용 정리

가) HPAI 발생 시 단계별 대응 전략

(1) 그림 은 HPAI 발생 시 단계별로 대응방법에 대해서 나타낸 그림임.



<그림. AI발생 단계에 따른 대응방법>

라. FAO의 재입식 매뉴얼 조사

1) FAO ANIMAL PRODUCTION AND HEALTH

- 유엔세계식량 농업기구(Food and Agriculture Organization of the united nations: FAO)에서 제시

감염 영역 - 보호지역과 감시지역의 선언

국무장관은 발생지점을 중심으로 최소 반경 3km의 보호지역을 선언함. Schedule 4는 보호지역(PZ)에 적용됨.

국무장관은 발생지점을 중심으로 최소 반경 10km의 감시지역을 선언함. Schedule 5는 감시지역(SZ)에 적용됨.

국무장관 판단하에 필요하다고 판단되는 반경의 제한지역(RZ)을 선언할 수 있음.

Schedule 4 - 보호지역 내에서의 조치

- 조류의 격리조치
- 조류관련 모임금지
- 사냥 금지
- 구역의 출입 시 세척/소독
- 구역 내외로의 이동 제한
- 수의사 지침에 따른 사체 처리
- 방역조치
- 허가된 방법으로 분뇨 및 슬러지 처리
- 조류, 계란, 가금육, 폐사체의 이동 제한
- 가금류, 가금육, 병아리와 계란의 이동에 대한 이동허가
- 제한지역에 대한 접근

제한 해제

제한은 명시된 날짜 혹은 취소시까지 적용됨. 국무장관의 선언에 의해 보호지역의 해제가 가능함. 그러나 어떠한 경우에도 제시된 세척/소독 후 21일이 지나기 전에는 불가능하며, 지역 내 모든 구역의 가금류나 다른 조류에 대한 수의학적 조사가 이루어져야 함.

보호지역 종료시 감시지역으로 바뀜

국무장관의 선언에 의해 감시지역의 해제가 가능함. 그러나 어떠한 경우에도 제시된 세척/소독 후 30일이 지나기 전까지는 불가능함.

Schedule 5 - 감시지역 내에서의 조치

- 조류관련 모임금지
- 사냥 금지
- 구역의 출입 시 세척/소독
- 기록 유지
- 구역 내외로의 가금류, 조류 및 다른 포유류의 이동에 대한 제한
- 방역조치
- 허가된 방법으로 분뇨 및 슬러지 처리
- 감시지역 내에서의 가금류와 계란의 이동제한
- 감시지역 밖의 가금류와 계란의 이동제한
- 가금류, 가금육, 병아리, 계란의 이동허가

다른 증으로의 확산 위험 감소 조치

국무장관은 조류독감이 확진된 구역 내의 돼지에서 검사를 실시 돼지와 다른 포유동물은 조류독감의 확산 방지를 위해 살처분될 수도 있음. 테스트가 진행되는 동안 구역의 이동이 제한됨. 접촉지역에도 적용 가능함. 국무장관은 표유류의 조류독감 감염에 대한 감시를 요청할 수 있으며, 조류독감 지역(포유류의 제한)을 선언할 수 있음.

한 HPAI를 위한 대응방법으로, AI의 임상증상, 발생시의 대처방법 등을 안내하고 있음. 본 매뉴얼은 총 5개의 contents로, Contents 1. Introduction, Contents 2. Avian influenza and the viruses that cause it, Contents 3. The risk of introduction and dissemination of avian influenza, Contents 4. Preparing for an outbreak, Contents 5. Prevention and biosecurity로 구성되어 있고, 주요내용을 요약하면 다음과 같음.

※ 주요 내용 정리

가) Avian Influenza의 제어 전략

- (1) HPAI 발생 시 조속하고 신속한 대응이 요구되는 주된 목적은 질병이 퍼지기 전에 억제하고, 위험지역을 격리하고, 적절히 처리함으로써 바이러스를 빠른 시일 내에 제거하는 것임.
- (2) 중장기적으로 근절시키지 못할 경우에는, 구획화를 하여 안전지역을 설정하는 방법도 있지만, 이러한 경우에는 바이러스가 안전지역 안으로 들어가지 못하도록 엄격한 관리감독에 응하여

진행해야 함.

나) 살처분

(1) 기본적으로 HPAI를 제거하기 위한 방법은 감염지역을 즉시 격리하고, 감염된 모든 가금을 살처분하고 살처분계를 적절한 방법으로 처분한 후 창고 및 축사의 오염을 제거하고 감염지역 주변지역을 감시하며, 감염된 계군의 축산물이 유통되지 않도록 막는 것임.

(2) 격리와 이동 통제

(가) AI는 쉽게 전염되기에 오염 가능성이 있는 모든 물체의 움직임을 엄격히 통제하는 것은 초기에 AI를 근절하기 위한 적절한 조치임. 가장 이상적인 방법은 모든 감염지역과 의심지역을 격리하고 축주, 근무자, 방문자를 포함한 모든 사람과 그들의 옷, 신발 등이 외부로 유출되지 않도록 엄격히 관리해야 함.

(나) 효과적인 검역을 위해 24시간 상시 보안이 필요하며, 개인보호복을 착용한 승인된 사람만 진입하여 통제하도록 함.

(3) 살처분

(가) 감염 지역과 위험접촉지역의 모든 감수성 있는 가금류에 대해서는 감염 여부와 상관없이 살처분되어야 함.

(나) AI를 통제하기 위해 모든 가능성을 염두에 둔 보편적으로 적용할 수 있는 구역설정과 관련된 표준을 제시하는 것은 어렵지만 아래의 구역에 대한 정의와 범위설정은 HPAI를 효과적으로 통제하기 위한 지침으로 사용할 수 있음. 역학에 관련된 내용은 지리적 특성, 역학적 특성 및 그 지역의 사육특성 등에 따라 달라질 수 있음.

① IA (Infected area, 감염영역) : HPAI 바이러스가 감지된 지역(마을 혹은 농장), 지역내 모든 감수성 있는 가금류는 살처분되며, 격리대상임.

② RA (Restricted area, 제한영역) : 감염 장소 주변으로 설정되는 영역이며, RA밖으로의 이동은 승인을 통해서는 이동할 수 있음. 원형일 수도 있지만 물리적/지리적인 형태 등 변수에 의해 불규칙하게 설정될 수 있으며, 주로 IA로부터 1 - 5km로 설정됨.

③ CA (Control area, 통제영역) : 한 개 또는 여러 개의 RA 주변에 설정되며, RA에 따라 원형이 아닌 불규칙한 형태로 설정될 수 있음, 주로 RA의 경계로부터 2 - 10km로 설정됨. CA 내에서 이동이 허용되지만 CA 밖으로의 이동은 최고책임수의사의 승인이 있어야 함.

(다) 적은 수를 살처분 할 경우에는 경추탈골의 방법으로 살처분하지만 상업용 가금 같은 많은 수의 가금류를 살처분 할 경우에는 CO₂ 가스를 이용한 방법을 주로 이용함. CO₂가스는 30 - 45초 동안 노출시켜야 하며, 농도는 60 - 70%여야 하며, 1-2분간 완벽히 밀폐시켜서 질식사시켜야 함.

(4) 안전한 사체처리

(가) 폐사체, 살처분된 가금, 오염된 폐기물 등은 매장하는 것이 가장 좋지만 지하수 오염과 같은 환경적 영향으로 인해 불가능할 경우에는 발효처리하는 것이 바람직함.

(나) 발효 시키는 방법은 오염물질, 깔집, 사체 등을 처리하는데 효과적이며, 이동거리를 최소화시켜 이동 중 전파위험성을 감소시켜야함. 톱밥이나 지푸라기 같은 물질을 함께 넣어 산소가 투과될 수 있도록 하며 압력을 가해서는 안됨. 10일 이내에 55 - 60℃의 온도가 되어야 하며, 몇 주 동안 방치해야 함.

(다) 소각은 다수의 감염지역이 있을 경우 효율적으로 사용할 수 있음. 주변 초목에 불길이 번지지 않도록 조치해야 함.

(라) 매립, 소각 또는 발효처리가 어려운 경우 렌더링을 통해 처리 가능하지만, 오염물질을 운송하기 때문에 이동 중 바이러스 전파의 위험성이 있음. 운송자는 운송도중 유출되는 오염

물질에 대체하기 위해 승인된 소독제 및 소독장비를 구비해야 하며, 모든 차량은 감염지역을 출발할 때와 하역하고 난 후에 세척/소독을 실시해야 함.

(5) 소독

(가) AI 바이러스는 외부의 지질층이 세제에 의해 다른 바이러스보다 더 쉽게 파괴되기 때문에 오염된 표면의 세척은 비눗물(혹은 세제)이나 적용 가능한 소독제로 진행해야 함. 가금류의 분변에서 바이러스가 오래 생존할 수 있기 때문에 축사 출입 시에 분변에 오염된 케이지나 신발 옷 등 배설물은 반드시 완전하게 세척하고 소독하는 것이 중요함.

(나) 소독장소에 따른 소독제의 종류는 호주의 AUSVETPLAN에 제시된 소독제를 참고하고 있음.

(6) 휴지기, 재입식 기간

(가) 살처분, 폐기, 오염제거 절차가 완료된 후, 바이러스의 추정 생존기간에 따라 일정 기간 동안 감수성이 있는 가금류 없이 두어야 함. 재입식은 세척과 소독이 끝나고 그 지역의 AI 발병이 통제된 이후 최소 21일 이후에 진행해야 함.

(나) 재입식은 적은 수의 가금을 먼저 입식한 후 매일 질병에 대한 임상증상을 모니터링 함. 임상증상이 보인다면 즉시 방역당국에 연락하고, 증상이 보이거나 폐사축에서 샘플링하여 원인을 즉시 파악해야 함.

(다) 만약 임상증상 없이 건강하다면, 정상적인 재입식을 진행해도 됨. AI와 다른 질병이 다시 유입이 될 가능성이 있기 때문에 방역절차는 계속 유지해야 하며, 폐사축에서 샘플링, 검사를 지속적으로 진행하여 모니터링 해야 함.

마. 국내 재입식 매뉴얼 조사

1) 조류인플루엔자 긴급행동지침

- 조류 인플루엔자에 대한 긴급행동지침으로, 2017년 9월 개정되었음. 구성은 제1장. 조류인플루엔자(AI)란?, 제2장. 조류인플루엔자 발생상황별 긴급조치사항, 제3장. 위기경보 수준별 유관부처 협조업무, 제4장. 평시, 특별방역대책기간 조치사항, 제5장. 조류인플루엔자 표준 행동요령으로 구성되어 있음.

- 본 연구와 관련된 발생 후 재입식까지의 매뉴얼의 내용을 요약하면 다음과 같음.

※ 주요 내용 정리

가) 조류 인플루엔자 표준 행동요령

(1) 발생확인 시 긴급 방역 조치사항

(가) HPAI가 확인되는 즉시 Standstill(전국이동일시중지명령)을 발령하며, 발생사실을 공표하고 OIE나 관련국가에 HPAI발생 통보 및 필요시에는 국제표준연구소에 검사를 의뢰함.

(나) 발생원인, 유입 및 전파경로 등 역학조사 및 분석을 실시함.

(다) 관리지역(500m 이내), 보호지역(반경 500m - 3km), 예찰지역(반경 3km - 10km)의 방역지역을 설정하고 발생농장 또는 발생지에 이동통제초소를 가장 우선적으로 설치하여 운영함.

(라) 방역지역 내 주요 국도 및 지방도로에 이동통제초소를 설치하고 감수성이 있는 가축 및 축산물의 이동을 제한함.

(2) 살처분 및 사체처리 요령

(가) 관리지역 안에서 사육되고 있는 적용대상동물 및 생산물에 대해 살처분 및 폐기해야 함. 다만 중앙가축방역심의회 심의결과 살처분이 불필요하다고 인정되는 경우 정밀검사 결과 음성인 농장에 한해서 도축장 출하 가능함.

(나) 발생농장 축주 등이 발생지역 외의 지역에서 사육하고 있는 감수성 동물 및 그 생산물도

함께 살처분/폐기하며, 발생농장 근접거리에 위치하거나 동일한 진입로를 사용 등 역학적으로 감염이 의심되는 감수성 동물 및 생산물도 살처분/폐기함.

(다) 살처분된 사체는 농장 내에서 처리함이 원칙이나 부득이한 경우 농장 가까운 곳에서 처리가 가능하며, 사체 처리시 농장 내 오염물(사료, 깔짚 등)을 함께 처리함.

(라) 살처분 방법은 사살, 전살, 약물사용, CO2가스, N2가스 등의 방법 가운데 현장에서 사용이 용이한 방법을 선택하여 적용함.

(마) 살처분 완료된 사체의 처리방법은 아래와 같음

① 매몰장소는 현장 여건을 고려하여 선정하며, 매몰지 깊이는 5m를 넘지 않고, 매몰수량이 많을 경우에는 500m³(5m x 5m x 20m)를 초과하지 않도록 분할 매몰한다(닭 5,000수/50m³)

② 소각은 농장 내에서 함을 원칙으로 하며, 공공 소각시설로 이동시에는 운송 시 바이러스 전파위험을 최소화시켜야 하며, 사체를 소각 후 남은 잔존물은 매몰처리함.

③ 이동식 열처리시설을 이용할 경우 처리 후 잔재물과 처리전 사체(오염물)가 접촉하여 교차오염이 되는 것을 주의하며, 농장 내 퇴비장 또는 분뇨처리장과 같은 곳에서 진행하며, 잔재물은 퇴비 또는 매몰처리함.

④ 렌더링 처리는 발생농장에서 가장 가까운 거리의 시설을 이용하며, 운송시 바이러스 전파위험을 최소화시키는 조치를 취해야 함. 도착 후 차량 외부소독을 진행, 사체를 하역한 후 차량 내외부 및 적재함을 다시 소독함.

(3) 조류인플루엔자 발생농장 입식시험 단계별 조치사항

(가) 발생농장에 대한 입식시험 단계는 사전준비와 입식절차 등 2단계로 이루어짐

(나) 1단계 사전준비

① 이동제한 해제: 마지막 발생 이후 30일이 경과된 후 닭 오리 검사 및 환경검사 후 이상이 없을 경우 이동제한 해제됨

② 오염물질 제거: 분변의 경우 농장 내 매몰 혹은 발효처리 후 농장 밖으로 반출, 가축 생산물, 사료, 깔짚 및 기자제와 약품등은 소각 또는 매몰하여 처리함

③ 세척 및 소독: 계사 내부 소독 후 유기물 제거를 위하여 세척 실시, 세척 후 적정 소독제를 사용하여 소독 실시, 1차와 동일하게 2차 소독 실시하며 미흡할 경우 추가 소독 실시

(다) 2단계 입식절차

① 농장 점검 신청: 세척 및 소독이 완료된 농장의 경우 소유주가 지자체에 입식시험 전 점검을 신청

② 1, 2차 점검: 지자체에서 해당 농장에 대한 1차 점검을 실시하며 지적 사항이 없을 경우 검역본부에서 2차 점검을 실시. 주요 점검사항은 육안 검사를 통한 세척 및 소독 상태를 확인. 1, 2차 점검 결과 결격사항이 없을 경우 입식시험을 승인

③ 입식시험: 비발생 지역의 감수성 동물(닭)을 21동안 사육, 이상이 없을 경우 재입식 승인

구분	단계별	단계별 준비사항 및 조치사항	구분	단계별	단계별 준비사항 및 조치사항
입식 절차	1단계 (농장 점검 신청)	○ 사전 준비 완료 후 농장주가 해당 시·군으로 입식시험 전 점검 신청 ※ 농장의 소유자들은 김수성 가족을 재사육할 수 있을 때까지 일일로 축사 등 농장 내 시설을 변경하거나 왕겨, 시료, 깔짚 등의 농장내 반입 금지	사건 준비	1단계 (이동제한 해제)	○ 마지막 발생농장의 살처분 대상동물에 대한 살처분 및 발생농장 안의 오염 또는 오염의심 물건에 대한 세척·소독·소각 또는 매몰 조치가 끝난 날부터 30일이 지난 후 예방지역(관리·보호지역 포함) 안의 1. 닭 검사(입상검사, 필요시 열정검사·항원검사) 2. 오리 검사(열정검사 및 항원검사) 3. 사육하지 않는 빈 축사의 환경시료에 대한 항원 검사 ※ 1., 2., 3.의 검사결과 이상이 없다고 판정된 경우 이동제한 해제
	2단계 (농장 1차 점검)	○ 해당 시·군에서 농장에 대한 입식시험 전 점검(1차) 실시 (별지 제4호 서식)		2단계 (분뇨(변) 및 오염(의심) 물건 조치)	○ 분뇨(변) 1. 살처분시 농장내 매몰 2. 살처분시 분뇨처리(가) 어려운 경우 - 생석회 도포 또는 소독약 살포 후 비닐 등으로 덮어 밀폐·보관 후 30일 경과 후 병원체 오염여부 검사(분변 검사) 결과 이상이 없는 경우 매몰 또는 발효 처리 3. 농장 밖 반출 - 살처분 완료일부 60일이 지난 후 분변검사 이상이 없는 경우 ○ 오염 또는 오염의심 물건 1. 가족의 생산물(알·깃털 등) : 소각 또는 매몰 2. 배합사료·조사료·깔짚·왕겨 등 : 소각 또는 매몰 3. 차량·축산기자재·장비 등 : 세척 및 소독 4. 가족의 치료에 사용한 약품류 : 소각 또는 매몰
	3단계 (확인 점검 요청)	○ 입식시험 전 점검(1차) 결과 적합일 경우 농림축산검역본부로 확인 점검 요청 ※ 부적합일 경우 농장 보완 조치 및 재점검 실시		3단계 (청소·세척 및 소독)	○ 농장의 소독일시 요령 1단계 : 축사내 바닥 및 분뇨 소독(2일 간격 3회 이상), 훈증소독(12시간 이상 또는 소독제 용법에 명시된 시간) 및 환기 2단계 : 청소(천장→벽면→케이지→바닥 순서, 분뇨·털·각종 물품 청소, 구석진 곳은 토치·랩프 소각), 세척·소독(천장→벽면→케이지→바닥), 훈증소독(12시간 이상 또는 소독제 용법에 명시된 시간) 3단계 : 2단계 미흡사항 보완, 2단계의 세척·소독, 훈증소독 요령에 따라 소독 4단계 : 3단계 미흡사항 보완, 2단계의 세척·소독, 훈증소독 요령에 따라 소독 ○ 농장내 사용약품·창고 등과 거주자, 분뇨 처리장·도구 등(스키르터·차량, 분뇨처리도구, 소독장비, 농장 주변지역, 살처분 매몰 장소 등) ※ 농장주는 재입식 시기까지 주 2회 이상 세척·소독하고 시·군 관계관은 매주 1회 이상 점검 실시(12. 청소·세척 및 소독요령 참조)
	4단계 (농장 2차 점검)	○ 농림축산검역본부에서 해당 시·군에서 요청한 농장 확인 점검(2차)			
	5단계 (입식시험 승인)	○ 농장 확인 점검(2차) 결과 적합일 경우 농림축산검역본부 입식시험 승인 ※ 부적합일 경우 해당 시·군에 농장 보완 조치 통보 및 재점검 실시			
	6단계 (입식시험 진행)	○ 시험가족 선정 - AI 비발생지역(방역지역 외)의 6~12주령의 산란계 중추, 모든 축사당 최소 5주 이상 ○ 입상검사 및 열정검사 결과 음성(별지 제5호 서식) ○ 입식시험 - 시도 가족방역기관 : 입식시험 개시 후 14일까지 2일마다, 15일부터 21일까지 주2회 입상검사 실시, 축사별 입상검사 내역기록(별지 제6호 서식) - 입식시험 개시 3주 경과 후 정밀검사(열정검사) 실시 ○ 입식시험 개시 3주 경과 후 농장에 대한 환경검사(정밀검사) 실시 ※ 양성인 경우 농림축산식품부 및 농림축산검역본부에 보고			
	7단계 (재입식 승인 요청)	○ 해당 시·군에서는 입식시험 결과 이상이 없고 환경검사 결과 이상이 없는 경우 농림축산검역본부에 재입식 승인 요청 - 입식시험 관련 제반서류 첨부(시험가족 선정 서류, 입식시험 시험축 등 점검표, 입식시험 입상검사표, 열정검사 및 환경검사 결과 등)			
	8단계 (재입식 승인)	○ 농림축산검역본부는 해당 시·군에서 제출한 입식시험 제반서류를 검토하여 적합일 경우 최근 5년간 2번 이상 발생한 농가의 경우에는 차단방역 교육(검역) 본부 관계자로부터 4시간을 실시 후 재입식 승인 ※ 부적합일 경우 해당 시·군에 보완 조치			

〈그림. 국내 발생농장 재입식을 위한 단계별 조치〉

(4) 청소, 세척 및 소독요령

(가) 기본 원칙은 시·군과 농장주가 공동으로 최초 세척, 소독을 실시하며, 농장주는 재입식 까지 주 2회 이상 세척, 소독을 실시하고, 시·군 관계자는 매주 1회 이상 발생농장의 세척 및 소독 실시여부를 점검하고 국가동물방역통합시스템(KAHIS)에 입력함. 농장 내 오염물 살처분/폐기 완료 후 48시간 이내에 처리함.

(나) 발생농장, 예방적 살처분 농가 중 양성농가, H5/H7 항체가 검출되어 살처분된농가 및 환경검사 결과 양성판정인 농가의 소독 실시요령은 다음과 같음.

① 발생농장 1단계 소독

- 축사 내 바닥 및 분뇨에 대해 생석회를 도포하거나 생석회수 살포 또는 유효소독제를 2일 간격으로 3회 이상 충분히 소독 실시함.
- 약사법 및 동물용의약품 등 취급규칙에 따라 허가받은 훈증소독제를 이용하여 소독 실시 후 충분히 환기

② 발생농장 2단계 소독

- 세정제 겸용 소독제를 분무하여 천장, 벽면, 시설물, 바닥의 순서로 청소하며, 축사 내 분뇨, 깃털 등을 청소함.
- 구석 등 제거가 어려운 곳은 토치 등으로 소각하며, 청소 중 나온 분뇨, 털 등은 소각/매몰/발효처리 함.
- 천장, 벽면, 시설물, 바닥의 순서로 세척/소독을 실시하며, 유기물이 있으므로 소독약 농도를 높여서 사용함. 소독약으로 세척/소독하여 작업의 효율성을 제고함.
- 축사 출입문, 환기구를 완전히 막아 축사를 밀폐시킨 후 12시간 이상 충분히 훈증소독을 진행함.

③ 발생농장 3단계 소독

- 2단계 소독실시에 따른 미흡한 점을 보완하여 2단계의 세척/소독을 재진행

④ 발생농장 4단계 소독

- 3단계 소독실시에 따른 미흡한 점을 보완하여 2단계의 세척/소독을 재진행

- 필요한 경우 추가 소독을 실시하며, 4단계 소독을 완료한 후 입식시험 가능여부를 점검함.

(다) 적용대상에 따른 소독제는 표 4와 같음.

(5) 입식시험 요령

(가) 분변처리 등 농장 내 세척/소독이 완료되고, 환경검사(정밀검사) 결과 이상이 없어야 함.

(나) 예찰지역에 대한 이동제한이 해제된 후 최소 21일이 경과.

(다) 시장 및 군수는 입식시험 전 점검표에 따라 해당 농장을 점검하고, 이상이 없다고 판단될 경우 검역본부장에 입식시험 승인을 요청함. 검역본부장이 해당 농장에 대한 점검을 실시하고 이상이 없는 경우 입식시험을 승인함.

(라) 입식시험에 사용되는 가축은 비발생지역에서 사육되고 있는 건강한 닭으로, 입식시험 전 임상검사 및 혈청검사 결과 이상이 없어야 함. 가장 감수성이 높은 축종인 닭으로 하며, 모든 축사당 4 - 12주 산란계 중추(웅추포함) 최소 5수 이상으로 함.

(마) 발생농장의 입식시험은 예찰지역에 대한 이동제한이 해제된 후 바이러스검사와 환경검사를 실시하여 이상이 없는 경우 실시함.

(바) 발생농장의 소유자들은 시험가축이 발생농장 안의 오염가능성이 있는 모든 장소 또는 부위에 접촉할 수 있도록 끈고루 배치함.

(사) 입식시험기간은 최대 잠복기를 감안, 3주간으로 하며, 입식시험 개시 후 14일까지 매 2일마다, 15일부터 21일까지는 주 2회 임상검사를 실시하고 검사내역을 기록해야 함.

<표. 국내 매뉴얼의 소독 대상에 따른 권장 소독제의 종류>

소독제		주요 적용대상
염기(알칼리)제제	가성소다, 탄산소다	축사, 시설, 폐수, 분뇨, 기계 및 차량, 의복 사람 및 축체에 사용금지(알루미늄 계통에 사용금지)
	생석회	사체, 동물이 없는 축사 바닥 및 토양 사람, 차량이 많은 도로에는 적합하지 않음
산성제제	염산(Hydrochloric acid)	분뇨
	구연산(Citric acid)	분뇨
알데하이드계	글루탈 알데하이드	생체에 사용금지
	포르말린	생체에 사용금지
	포름알데하이드 혼중 (Formaldehyde gas)	밀폐공간(축사, 창고, 사택, 차량 등)
산화제	차아염소산	축사, 기구, 숙소, 의복
	이염화이소시안나트륨	축사, 기구, 숙소, 의복
	기타(복합염류)	축사, 기구, 숙소, 의복(소독제별로 다름)
비누 및 세정제		축사, 기구, 숙소, 기계, 차량, 의복

* 소독제 성분 조성별로 다를 수 있으므로, 제품별 설명서에 따라 선택함.

(아) 입식시험에서 이상이 발생한 경우 즉시 이동제한 조치를 하고 정밀검사를 진행함. 정밀검사 결과 이상이 없는 경우에 한하여 재사육을 위한 입식 승인을 요청할 수 있음.

(자) 입식시험 중 인근 지역에서 AI가 발생되어 보호지역(3km) 내에 위치할 경우 즉시 살처분 후 방역지역 해제이후 재입식 시험 진행가능. 예찰지역(3km - 10km) 내에 위치할 경우에는 계속 진행함.

2. 해외 및 국내 차단방역 및 재입식 매뉴얼 비교분석

가. HPAI 발생 후의 방역대설정

- 1) 본 연구를 위해 조사한 미국, 호주, 영국, FAO, 대한민국 등 5개의 매뉴얼을 분석하면 5개의 매뉴얼 모두 HPAI의 발생 후 IP(감염지역)을 기준으로 방역대를 구성하고 격리하여 HPAI의 확산전파를 막음. 대체로 감염지역으로부터 1차방역대는 1 - 5km로 설정하고, 2차방역대 감염되지 않은 청정 지역과의 완충 역할을 하며 대체로 2 - 10km로 설정됨. 원형으로 방역대를 설정하지만 지리적, 물리적 여건에 따라 불규칙하게 설정될 수도 있음.
- 2) 미국의 경우에는 IP를 기준으로 최소반경 3km 이상의 지역으로 방역대를 설정하고, 이를 IZ(감염지역)로 관리함. BZ(완충지역)는 IP를 기준으로 7km 이상의 지역으로 설정하고, IZ와 BZ를 CA(통제영역)으로 묶어서 관리함. CA의 바깥으로는 SZ(감시지역)이 있으며, 10km 이상으로 설정함.
- 3) 호주의 경우에는 RA(제한영역)과 CA(통제영역)를 설정하고 RA는 감염구역과 의심구역, 위험접촉구역을 포함하며, 감염구역을 중심으로 1 - 5km 설정하며, 이 영역 내에서는 축산과 관계된 차량의 이동을 통제하여 확산을 막음. CA는 2 - 10km로 설정하며, 감염구역과 청정지역 사이의 완충역할을 함.
- 4) 영국의 경우에는 H5N1과 그 외의 경우로 나누어지며, H5N1이 이외의 경우에는 PZ(방어지역)는 3km, SZ(감시지역)는 10km 반경이 설정함. H5N1일 경우는 RZ(제한지역)를 유연하게 추가 설정하여 확산을 방지.
- 5) FAO의 매뉴얼에 따르면 감염이 발생된 장소 주변으로 RA(제한영역)를 설정하며, 1 - 5km로 설정됨. 방역대는 원형으로 구획될 수도 있지만 지리적 여건에 따라서 불규칙하게 설정하며, 2 - 10km 반경으로 CA(통제영역)를 설정함.
- 6) 우리나라의 매뉴얼은 관리지역(500m 이내), 보호지역(반경 500m - 3km), 예찰지역(반경 3km - 10km)으로 총 3개의 지역으로 설정하여 관리함.

나. 발생 후 살처분 및 사체처리

- 1) 살처분에 관련된 내용에는 5개의 매뉴얼에 모두 공통적으로 동물복지를 고려하여 동물이 느끼는 고통을 최소화 할 수 있는 방법과 시설 및 환경적인 문제를 고려하여 운용가능한 살처분 방법을 선택하도록 제시하고 있음.
- 2) 우리나라와 미국, 호주는 사체처리 방법에 대해서 별도의 SOP나 Operational Manual 등을 통해 매립이나 소각, 퇴비화 등 각각의 사체처리 방식의 원리와 방법을 구체적으로 제시하고 있었음.

다. 세척 및 소독

- 1) 미국과 호주의 경우에는 별도로 SOP와 Operational Manual을 통해서 세척과 소독의 절차와 방법에 대해 자세한 정보를 전달하고 있으며, 우리나라의 경우에는 조류인플루엔자 긴급행동지침(AI SOP)를 통해 세척 및 소독의 방법에 대해서 안내하고 있음.
- 2) 호주와 우리나라의 경우에는 소독의 횟수(호주: 최소 2회, 우리나라: 최소 4회)와 소독 대상에 따른 효과적인 소독제의 종류를 명시하였음. FAO에서는 호주의 매뉴얼에서 제시한 소독제를 참고하고 있음.

라. 재입식

- 1) 5개의 매뉴얼을 살펴보면 세척/소독 완료 후 공통적으로 바이러스 최대 잠복기간인 21일을 기점으로 입식을 허용하고 있음. 미국이나 우리나라의 매뉴얼은 재입식을 위한 방법이나 기간 등에 대해서 구체적으로 제시한 편이나, 호주나 영국, FAO에서 제시한 매뉴얼은 21일 이후 재입식이 가능하다는 내용 외에는 구체적인 방법에 대한 제시가 없음.
- 2) 미국의 경우에는 발생농장에서 재입식 승인을 위해 우선적으로 세척/소독을 통한 모든 검역조건을

- 충족시켜야 하고, 최소기간(21일) 이상의 휴지기를 가진 후 환경 샘플링에서 HPAI 바이러스가 검출되지 않아야 함. IC나 주정부, APHIS 공무원 등이 추가적인 기준을 부과할 수 있음. 재입식 승인이 이루어지면 HPAI 음성 판정을 받은 계군을 입식해야 하며, 입식전 24시간 간격으로 rRT-PCR 검사를 2회 이상 진행하여 음성판정 받은 계군을 입식함. 입식 이후 1회의 추가검사를 통해 음성판정을 받아야 하고, 주정부나 APHIS 공무원에 의해 추가검사가 진행될 수도 있음.
- 3) 호주의 경우에는 세척과 소독이 완료된 후 21일 이후 재입식이 가능하다는 내용 외에 다른 가이드라인은 없었음. AI 발생 이력이 없는 국가인 관계로 현재까지 상세한 매뉴얼이 구비되지 않은 것으로 판단됨.
 - 4) 영국의 매뉴얼에서는 발생농가는 최초 세척 및 소독이 완료된지 12개월 이후 혹은 2차 세척 및 소독이 완료되고 APHA의 평가를 만족하면 21일 후에 재입식이 가능함. 입식 후 21일간 APHA의 수의사에 의해 샘플링 검사를 진행하여 모니터링함.
 - 5) FAO의 매뉴얼에 따르면, 발생 후 최소 21일 이후 적은 수로 시험입식을 진행함. 매일 질병에 대한 임상증상을 모니터링 하고 문제가 발생되면 즉시 샘플링하여 원인을 파악함. 임상증상이 없다면 시험입식을 종료하고 재입식을 진행해도 되나, 지속적인 샘플링을 통한 모니터링은 필요함.
 - 6) 우리나라는 세척 및 소독이 완료된 후 입식시험 전 점검표에 따라 점검 후 입식시험을 거침. 감수성이 높은 닭으로 진행하며, 비발생지역의 건강한 닭으로 입식시험을 진행함. 입식시험 전 임상 및 혈청검사 결과 이상이 없어야 하며 모든 축사당 4 - 12주의 산란계 최소 5수 이상으로 진행. 3주간입식시험을 진행하며, 14일까지는 2일주기, 15일부터 21일까지는 주2회 임상검사를 실시하고 이상이 없을 경우 입식 승인을 요청할 수 있음.

3. 국내 재입식 매뉴얼의 문제점 및 보완사항

가. 문제점

- 1) 국내에서 권장하고 있는 재입식 매뉴얼은 해외 선진국의 매뉴얼과 대비하여 상세하게 작성되어 있음. 또한 방역대의 해제 및 농가의 오염물질 반출에 대한 규정도 매우 엄격하게 제정되어 있음.
- 2) 세척 및 소독과 관련된 내용 역시 해외의 매뉴얼에서 권장하는 수준 이상으로 설정되어 있으며 대상에 따른 권장 소독제도 제시하고 있어 세밀하게 구성되어 있어 문제점은 없는 것으로 판단됨.
- 3) 문제점에 대한 개선보다는 현재 제시되어 있는 매뉴얼의 일부 내용에 대한 보완을 하는 것이 필요할 것으로 판단됨

나. 보완사항

1) 세척 및 소독효과 검정

- 가) 아래그림은 국내의 재입식 매뉴얼을 요약하여 도식화한 것임. ㉠항목을 살펴보면 세척 및 소독이 끝난 후 해당 시군의 1차 점검이 있으며 검염본부의 2차 점검이 있음. 규정된 평가 서식을 확인해 본 결과 평가 항목은 육안 검사를 통한 세척 상태, 소각 매물 상태, 방역시설 상태 요건 등이 있음 (아래그림).



그림11. 국내 재입식 매뉴얼 요약
그림12. 입식 전 농장 점검 시 점검표

[별지 제4호서식]

조류인플루엔자 발생농장 입식시험전 청소·소독 등 점검표

□ 농장현황

축산업등록(농가)번호	농가명	축주명
전화번호	소재지	이동제한해제일
사육축종	사육동수	사육두수

□ 입식전 점검사항

가. 청소 소독

점검내역	점검결과(점검결과 상태가 양호하면 □에 √)
주택·관리사	입구소독조□, 내부□, 외부□, 거주시 사용물품□, 화장실□
축사	외부□, 입구소독조□, 바닥□, 울타리□, 벽□, 원치커린□, 기동□, 천장□, 기구보관 등 창고□, 냉창고□, 연막소독□, 살충제 살포□, 분뇨제거□
문동창	바닥□, 울타리□, 분뇨제거□
작업도구	트랙터□, 차량□, 손수레□, 삽□, 청소도구□, 기타 농장에서 사용하는 모든 기구□

나. 소각 매물

조류인플루엔자 발생시 급여중이던 사료□, 보관사료□, 보관함겨□
음식물찌꺼기□, 의복□, 신발□, 장화□, 소각가능한 물품□
빛자루 등 소각 가능한 작업도구(빛자루□, 기타□)

다. 강화된 방역시설 상태 및 요건

농장출입구 및 농장내 소독시설 유무□, 전실 유무(장화, 슬, 발판소독조 2개 구비)□
농장주변 울타리 및 출입통제문 유무□, 구서착업 여부(살서제, 쥐덫 등)□
매물지 부지 확보 여부□, 왕겨 보관 및 차단상태□
※ 관찰 시군은 농장 내 외 농경지, 사유지 등 매물부지 확인
방역 교육 이수 여부 □
※ 최근 5년간 2번 이상 발생한 농가에 한함

라. 기타 방역상 개선필요 사항 :

※ 입식전 농장 점검에서 조금이라도 미흡한 사항이 발견되면 입식시험을 하여서는 안되며, 미흡한 사항을 완벽하게 보완 조치한 후 재점검을 실시하여 조류인플루엔자 바이러스의 오염 우려가 없다고 판단될 때 입식시험 추진

나) 세척 및 소독 상태를 점검하는 것은 육안검사는 기본이 되어야 하며 추가적으로 유기물의 효과적인 제거 및 소독 효과의 검증이 필요함. 육안으로 검사할 때는 깨끗해 보이더라도 세척 소독이 충분히 이루어지지 않은 경우가 있음. 만약 유기물이 존재할 경우 바이러스 및 세균의 생존력이 높아지기 때문에 유기물이 충분히 제거되지 않았다면 세척 및 소독의 효과가 미흡한 것으로 판단할 수 있음.

다) 세척 및 소독 효과를 정확하게 검증하기 위한 검사의 추가가 필요할 것으로 판단됨

- (1) 분변 잔류 검사: 분변에 다량의 유기물이 포함되어 있기 때문에 분변의 잔류 검사를 실시할 경우 세척 효과를 검증할 수 있을 것임. 위탁연구기관인 한양대학교에서 개발 중인 조류분변의 요산에 대한 색전이 센서를 적용하여 계사 내 분변의 잔류 정도를 파악할 수 있음(위탁개발연구 참조).
- (2) 표면 총 세균 검사: 소독을 실시한 표면의 총 세균 수를 검사하여 소독 효과를 판단할 수 있음. 표면 총 세균 수는 널리 사용되고 있는 방법으로 표면 오염도를 파악하는데 사용됨. 소독 후 표면 총 세균 수 검사를 실시하여 실질적인 소독 효과를 검증할 수 있음. 또한 샘플링부터 검사결과를 확인할 때까지 1~2일이 소요되어 빠른 검사가 가능하다는 장점도 있음.

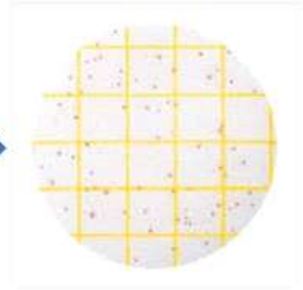
직접 접촉 샘플링



37°C 배양



세균 숫자 counting









<그림. 표면 총 세균 검사 방법>

2) 세척 시 세정제 사용

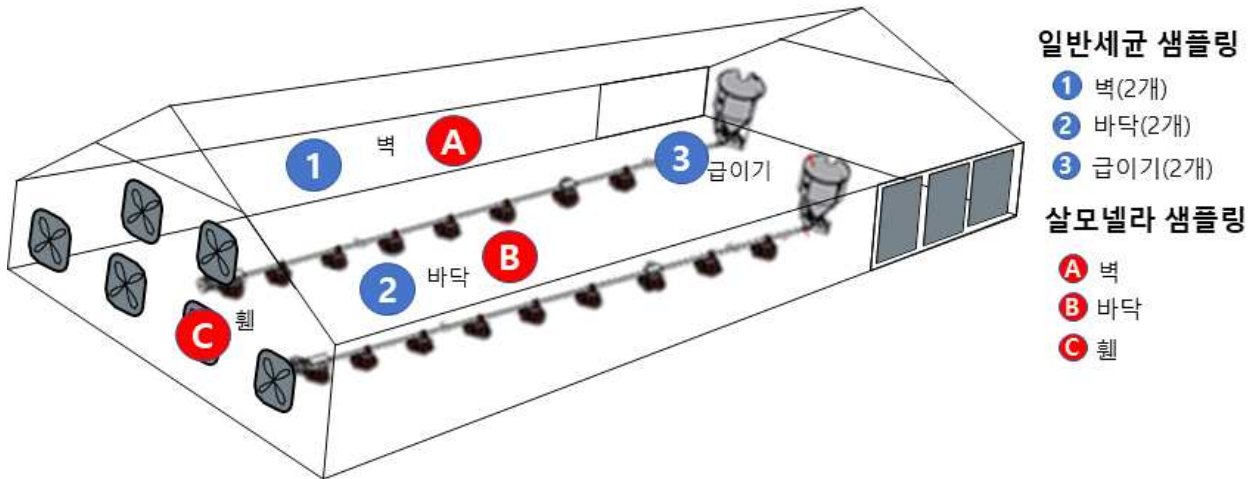
- 가) 국내 재입식 매뉴얼에서는 세척 시 세정제 겸용 소독제를 사용하여 세척할 것을 권장. 하지만 대부분의 농장에서는 고압세척기를 사용하여 물로만 세척을 하는 것이 현실정임.
- 나) 세정제를 사용하지 않고 물세척만 실시하였을 때 효과를 확인하기 위하여 세척 후 표면 총 세균 검사 및 살모넬라 검사를 실시하였음. 실험 방법 및 결과는 아래와 같음.

(1) 실험방법

- (가) 세척 및 소독: 그림 14와 같은 순서로 세척 및 소독을 실시함. 세척은 세정제를 사용하지 않고 물세척을 실시하였으며 2차와 3차 소독에 사용된 제품은 1:50의 희석배율로 사용함 (일반세균 대상 권장희석배수: 1:200)
- (나) 총 세균 샘플링: 그림 14의 6단계(세척) 이후와 7단계(소독) 이 후 각각 샘플링을 실시함. 완전 건조가 된 상태에서 그림 15의 위치에서 샘플링을 실시함. 각 계사 내 벽 2군데, 바닥 2군데, 급이기 2군데에서 샘플을 채취함(그림 15). 채취한 샘플을 24~36시간 배양을 실시한 후 colony 숫자를 측정(그림 13).
- (다) 살모넬라 샘플링: 샘플링을 실시한 농장은 사육 중 환경에서 살모넬라 양성으로 확인된 농장이었음. 세척 및 소독 후 살모넬라의 잔류 여부 및 세척/소독 효과를 확인하기 위하여 살모넬라 검사도 실시함. 그림 14의 6단계(세척) 이후와 7단계(소독) 이 후 각각 샘플링을 실시함. 완전 건조가 된 상태에서 그림 15의 위치에서 샘플링을 실시함. 채취한 샘플을 BPW 증균배양 후 RV 배양 실시. RV 배양액을 XLD와 Rambach agar에서 배양한 후 PCR을 실시하여 살모넬라 양성 여부 판별.

<p>1 단계. 계획 수립 세척과 관련된 상세한 일정, 시간, 노동력, 필요 장비 등에 대한 계획을 수립</p>	
<p>2 단계. 살충제 살포 계군 도태 후 최대한 빨리(계사가 따뜻한 상태일 때) 살충제를 살포. 살포 시에는 몸을 보호할 수 있는 장비를 착용한 후 법적으로 허가된 제품을 사용하여 계사 내부에 도포.</p>	
<p>3 단계. 먼제 제거 계사 내부의 표면과 기구에 있는 먼지와 거미줄을 모두 제거한다.</p>	
<p>4 단계. 장비 제거 계사 내부에 있는 모든 기구를 제거하고 자동급이기 및 급수기를 위로 올린다.</p>	
<p>5 단계. 깔짚 제거 및 처리 깔짚 및 분변을 로더를 사용하여 모두 제거 한 후 바닥의 먼지를 빗자루를 사용하여 제거.</p>	
<p>6 단계. 세척 고압세척기를 사용하여 천장, 벽, 바닥의 순서로 세척을 진행하며 마지막으로 급이기, 급수기 등을 세척.</p>	
<p>7 단계. 소독 글루탈알데히드와 포름알데히드가 포함된 소독제를 사용하여 1차 소독을 실시한 후 1~2일 경과 후 건조가 끝난 후 동일한 방법으로 2차 소독 실시.</p>	

<그림. 세척 및 소독 절차 및 방법>



<그림. 일반세균 및 살모넬라 샘플링 위치>

(2) 실험결과

(가) 세척 및 소독 후 총 세균

- ① 세척 후 총 세균 측정 실험 결과는 표4와 같음. 물로만 세척했을 경우 세균이 효과적으로 제거되지 않는 것으로 확인됨. 비록 육안으로 확인했을 때는 청결한 상태였으나 세정제가 포함되지 않을 경우에는 병원체의 감소 효과는 크지 않은 것으로 판단됨.

② 소독 후 총 세균 측정 실험 결과는 표5와 같음. 소독 후 세균의 수가 급격히 감소한 것으로 확인되었음. 비록 물로만 세척했으나 유기물이 적절히 제거되어 소독 효과가 나타난 것으로 판단됨. 또한 소독제를 권장 희석배수보다 4배 높게 사용한 것으로 인하여 높은 효과가 나타난 것으로 판단됨.

(나) 세척 및 소독 후 살모넬라

- ① 세척 후 살모넬라 분리 결과는 표6과 같음. 총 6개의 계사 중 5개의 계사에서 살모넬라가 분리되어 물로만 세척했을 때 살모넬라 제거 효과가 매우 낮은 것으로 확인됨.
- ② 소독 후 살모넬라 분리 결과는 표6과 같음. 소독 후에는 살모넬라 분리가 되지 않은 것으로 확인됨.

<표. 세척 후 총 세균 수 측정 결과>

계사	샘플위치	총세균	결과	계사	샘플위치	총세균	결과
1	계사벽	TNTC	불량	2	계사벽	TNTC	불량
	계사바닥	TNTC	불량		계사바닥	TNTC	불량
	급이기	TNTC	불량		급이기	TNTC	불량
3	계사벽	TNTC	불량	4	계사벽	TNTC	불량
	계사바닥	TNTC	불량		계사바닥	TNTC	불량
	급이기	TNTC	불량		급이기	TNTC	불량
5	계사벽	TNTC	불량	6	계사벽	TNTC	불량
	계사바닥	TNTC	불량		계사바닥	TNTC	불량
	급이기	TNTC	불량		급이기	TNTC	불량

<표. 소독 후 총 세균 수 측정 결과>

계사	샘플위치	총세균	결과	계사	샘플위치	총세균	결과
1	계사벽	36	우수	2	계사벽	93	우수
	계사바닥	130	우수		계사바닥	187	우수
	급이기	19	우수		급이기	35	우수
3	계사벽	117	우수	4	계사벽	116	우수
	계사바닥	220	우수		계사바닥	195	우수
	급이기	27	우수		급이기	20	우수
5	계사벽	61	우수	6	계사벽	62	우수
	계사바닥	170	우수		계사바닥	200	우수
	급이기	9	우수		급이기	22	우수

<표. 세척 및 소독 후 살모넬라 분리 결과>

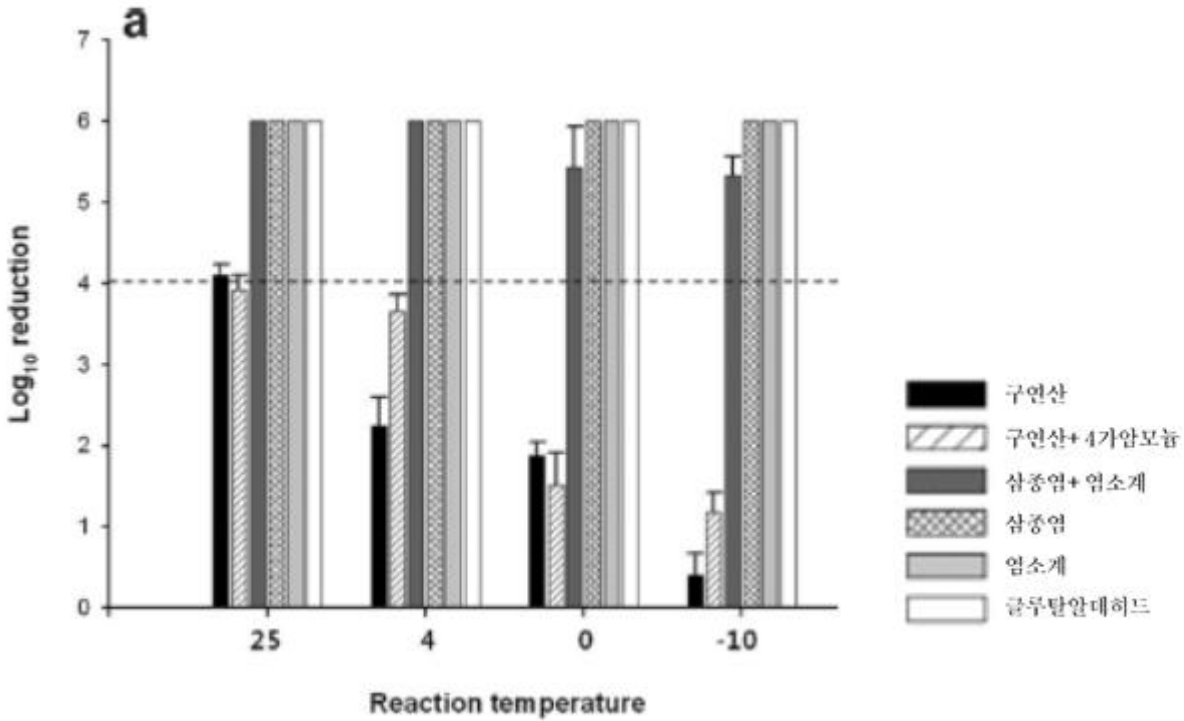
세척 후 살모넬라 검사	
계사	살모넬라 분리 결과
1	Sal. spp
2	음성
3	Sal. spp
4	Sal. spp
5	Sal. spp
6	Sal. spp

소독 후 살모넬라 검사	
계사	살모넬라 분리 결과
1	음성
2	음성
3	음성
4	음성
5	음성
6	음성

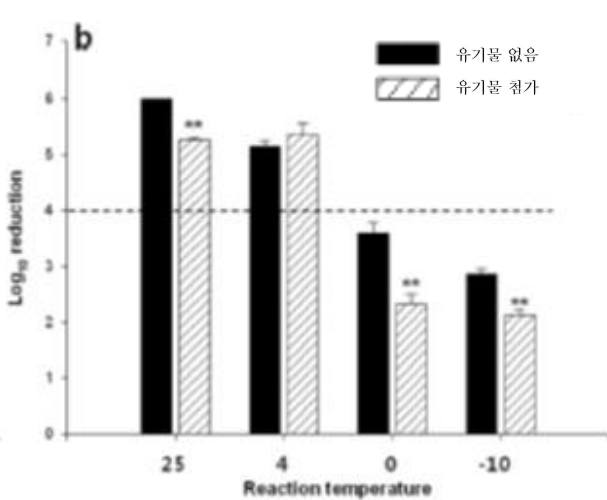
- 다) 실험 결과 물로만 세척한 경우 육안으로 검사 시 청결한 상태로 확인되었으며 대부분의 유기물은 제거가 된 것으로 보임. 하지만 총세균수 검사와 살모넬라 분리 검사 결과로 볼 때 병원체의 감소에는 큰 효과가 없는 것으로 확인됨.
- 라) 국내 매뉴얼에서 권장하는 세정제를 사용하는 세척방법을 2년차 실험에서 적용한 후 동일한 검사를 실시하여 세척 및 소독 효과를 평가할 예정임.
- 마) 세정제를 사용할 경우 효과는 개선될 수 있지만 환경독성 및 환경오염에 대한 우려가 있기 때문에 환경에 영향을 주지 않는 친환경 제품을 사용하여 실험을 실시할 예정.

3) 소독제 선정

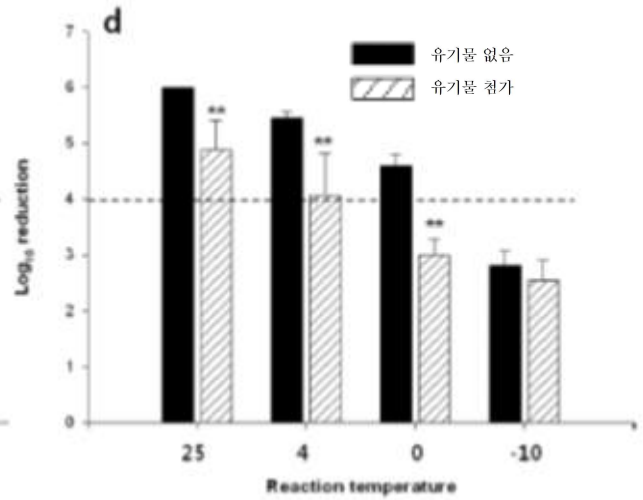
- 가) 소독제를 선정하는데 있어 가장 중요하게 고려해야 할 사항은 온도와 유기물의 존재 여부임. 일반적으로 소독제는 온도가 높을수록(약 25°C) 효과가 좋으며 유기물이 존재할 경우 효과가 낮아지는 경향이 있음. 따라서 소독제를 선정할 때는 위 두 가지 사항을 유념하여 결정해야 함.
- 나) 일반적으로 AI가 발생하는 시기는 철새가 유입되는 시기인 겨울철이기 때문에 소독제를 사용할 때는 낮은 온도에서도 효과적으로 작용하는 소독제의 선정이 필요함. 또한 소독제는 얼었을 경우 효과가 나타나지 않을 수 있기 때문에 겨울철에 얼지 않도록 하는 것이 중요함.
- 다) 농장은 동물을 사육하는 공간으로 먼지, 분변등의 유기물이 다량 존재함. 세척을 통하여 유기물을 효과적으로 제거하는 것이 중요하지만 완벽하게 유기물을 제거하는 것은 현실적으로 불가능함. 따라서 유기물 존재하에서도 효과적으로 작용하는 소독제의 선정이 중요함.
- 라) 온도와 유기물의 존재에 따른 소독제의 효과를 확인하기 위하여 문헌을 조사하였으며 요약한 내용은 아래와 같음.
 - (1) 온도, 접촉시간에 따른 인플루엔자 바이러스에 대한 소독제의 효능, Poultry Science 93:70-76, 2014, Jang et al.
 - (가) 각기 다른 소독제와 온도에서 인플루엔자 바이러스에 대한 소독 효능을 실험한 결과 구연산, 구연산+4가 암모늄은 온도가 낮을수록 효과가 매우 낮은 것으로 확인됨(그림16).
 - (나) 구연산 및 구연산+4가 암모늄은 유기물이 존재할 경우 효과가 매우 낮은 것으로 확인됨(그림17, 18).
 - (다) 삼중염, 염소계 소독제, 글루탈알데히드 등은 온도, 유기물과 관계없이 인플루엔자 바이러스에 대한 효과가 우수한 것으로 확인됨.



<그림. 소독제 별 온도에 따른 소독제 효과>



<그림. 구연산 온도별 소독 효과>



<그림. 구연산+4가 암모늄 온도별 소독 효과>

(2) 온도, 접촉시간에 따른 *Salmonella* Typhimurium(ST)에 대한 소독제의 효능, J Vet Sci., Jun 30;18(2), 209-216, 2017, Jang et al.

(가) 각기 다른 소독제와 온도에서 ST에 대한 소독 효능을 실험한 결과 염소계 소독제를 제외한 나머지 소독제는 온도가 낮아질수록 소독효과가 감소하는 것으로 확인됨(그림19).

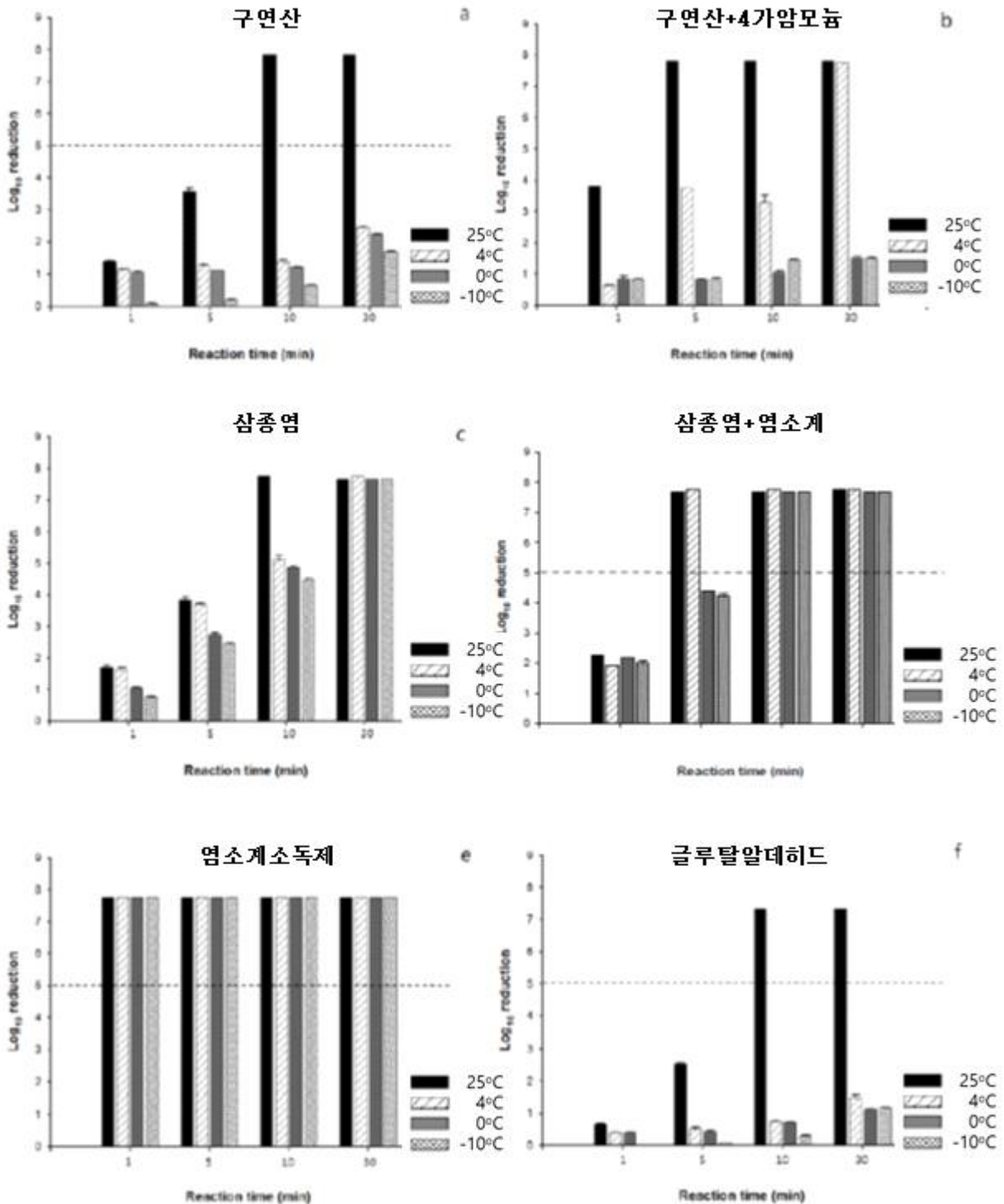
(나) ST에 대한 사멸효과는 염소계, 삼중염+염소계, 삼중염 순으로 우수한 것으로 확인됨.

(다) 글루탈알데히드는 ST에 대한 사멸 효과가 매우 낮은 것으로 확인됨.

마) 국내 매뉴얼에서 권장하는 소독제 중 구연산은 분변 소독 시, 글루탈알데히드는 인체를 제외한 나머지 물품 소독 시 사용하는 것을 권장하고 있음. 상기 문헌조사를 통해 확인해본 결과 구연

산은 낮은 온도와 유기물 존재하에서 소독효과가 매우 낮은 것으로 확인되었으며, 글루탈알데히드는 낮은 온도와 유기물 존재하에서도 인플루엔자에 대한 효과는 우수하였으나 살모넬라와 같은 세균의 사멸에는 효과가 낮은 것으로 확인됨.

바) 2차년도에는 권장되고 있는 소독제의 단점을 보완하기 위하여 낮은 온도와 유기물 존재 시에서도 소독효과가 우수한 소독제를 사용하여 소독을 실시한 후 소독효과를 검증할 계획임.



<그림. 소독제 종류 및 온도에 따른 ST에 대한 소독제 효과>

4) 환경검사 인플루엔자 바이러스 샘플링 방법

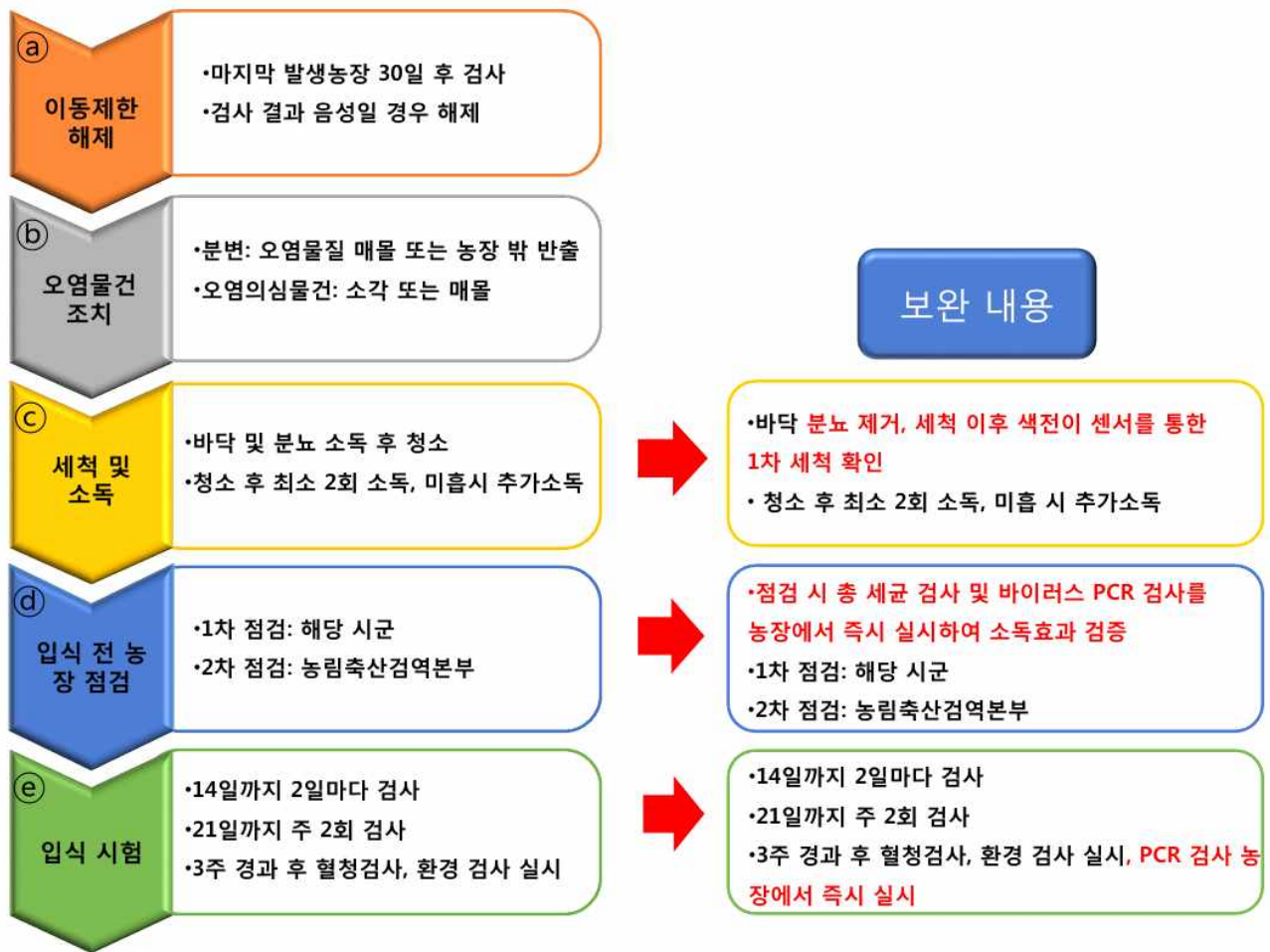
- 가) 현재 국내 매뉴얼에서는 입식시험 후 바이러스 샘플링(그림11, ©)에 대한 모델을 제시하지 않음.
- 나) 미국에서는 샘플링 영역을 넓히기 위하여 BHI 배지를 사용하여 샘플링을 실시한 후 PCR 검사를 실시(그림20). 만약 면봉을 활용하여 일부 지역을 샘플링할 경우 정확한 샘플링이 실시되지 않아 바이러스의 존재를 검출하지 못할 가능성이 있음.
- 다) 또한 샘플링 후 실험실로 이동하여 실험을 실시할 경우 시간이 길게 소요되어 농가에서 재입식이 되는 시기가 지연이 될 수 있음.
- 라) 현재 미국에서 사용되고 있는 방법을 사용하여 환경 샘플링을 실시하여 샘플링 면적을 넓히고 즉시 PCR 검사를 실시할 수 있는 방법을 도입한다면 빠르고 유의성 있는 검사 결과를 얻을 수 있을 것임.



<그림. 미국의 인플루엔자 바이러스 환경 검사 시 샘플링 및 검사 방법>

다. 국내 재입식 매뉴얼 보완형 모델 제시

- 1) 세척: 세척 시 세척제를 사용하여 세척 실시, 단계 별 상세한 세척 방법 및 과정 제시, 세척의 적절성 여부를 확인할 수 있는 검증방법 제시
- 2) 소독: 효과가 우수한 소독제 및 상세한 소독방법 제시
- 3) 입식 전 농장 점검: 1차 혹은 2차 점검 시 육안 검사를 보완하여 총세균검사를 통한 소독효과의 객관적 검증 추가. 잔류 바이러스의 확인을 위한 현장 즉시 실시 가능한 PCR 검사 방법 소개



<그림. 국내 재입식 매뉴얼 보완사항 모식도>

4. 농장 세척제 적용을 통한 세척 확인 실험

- 세척은 농장에 존재하는 잠재적인 위험 물질(병원체 등)을 물리적으로 제거하기 위한 가장 기본적인 과정으로 새로운 계군을 입식하기 전 필수적인 과정임
- 세척을 통해 물리적으로 병원체를 제거하기도 하지만 소독 이후의 과정인 소독의 효과를 극대화하기 위한 과정이기도 함
- 소독의 효과를 감소시키는 유기물은 물청소만으로도 제거가 되지만 효과적으로 제거하기 위해서는 계면활성제가 포함된 세척제를 사용하는 것이 필요함
- 또한 계면활성제는 소독제보다는 미약하지만 일부 소독효과도 있는 것으로 알려져있으나 농장 현장에서 실험한 객관적 결과는 없는 상황임
- 본 연구에서는 세척제의 사용 여부에 따른 분변의 제거 효과와 소독효과 확인 실험을 농장 현장에서 실시하여 세척제의 필요성을 평가할 수 있는 기초 자료로 활용할 계획임

가. 세척제 적용 여부에 따른 분변 제거 확인 실험

1) 시험방법

- 시험 농장: 대조군 2개 계사 실험군 2개 계사를 선정하여 3반복 실험을 실시

- 대조군의 계사 세척은 매뉴얼 권장 방식을 따라 진행 되었으며(재입식 매뉴얼 세척과정 참조) 건식 세척을 실시한 후 습식 세척을(물청소) 2회 실시
- 실험군의 계사 세척은 대조군과 동일한 방식으로 세척을 진행하였으나 1차 습식세척 시 세척제를 물과 1:50으로 희석한 용액을 사용하여 실시함
- 계사의 세척 상태를 검사하기 위하여 육안 검사를 실시하여 청결상태를 확인함. 벽, 바닥, 기구로 구분하여 세척 상태가 불량한 위치의 수를 파악함
- 계사의 분변 잔류 여부를 확인하기 위하여 바닥 검사를 실시함. 육안으로 먼저 관찰한 후 잔유물이 남아있거나 오염도가 높을 것으로 예상되는 곳을 5 site 선정하여 색전이 센서 검사를 실시함
- 분변 잔류 검사 방법은 색전이 센서를 사용하였으며 색전이 센서 적용 후 푸른색으로 변화할 경우 분변이 잔존하는 것으로 판단함



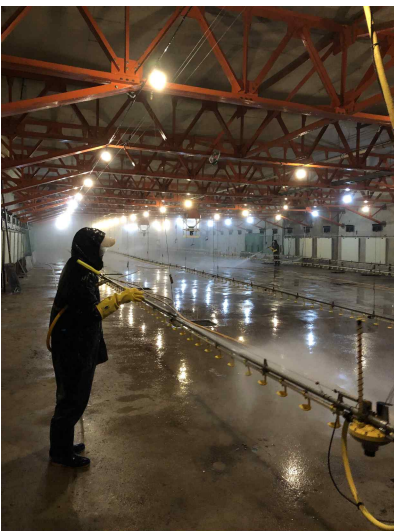
세척 전 계사 바닥



세척 전 측면 입기구



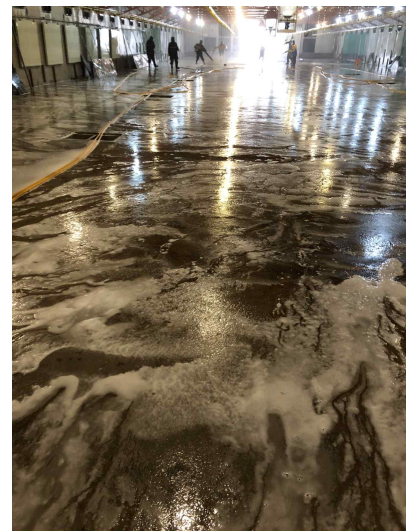
세척 전 터널팬 배기구



계사 물세척



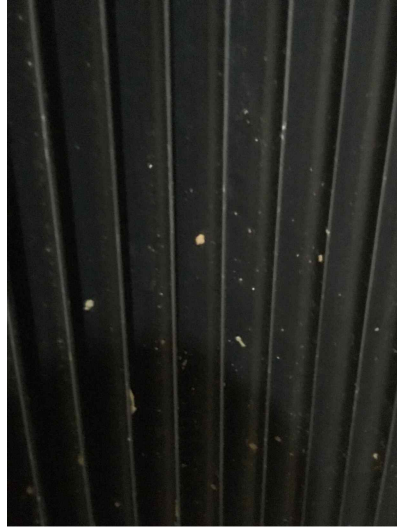
세척제 희석



세척제 사용 세척



물세척 후 바닥



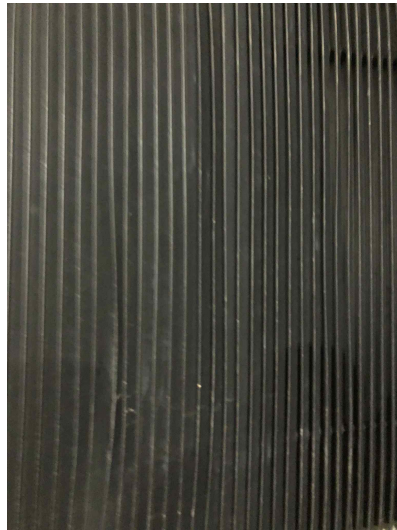
물세척 후 터널팬 입기구



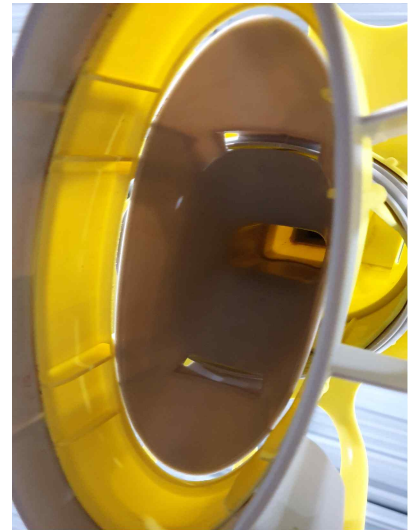
물세척 후 급이기



세척제 세척 후 바닥
터널



세척제 세척 후 터널팬 입기구



세척제 세척 후 급이기



세척 전 색전이센서 적용



세척 후 색전이 적용 (음성)



세척 후 색전이 적용 (양성)

2) 실험결과

<표. 물세척 후 세척 효과 검사 결과>

농장	계사	육안검사 ¹			색전이센서 ²
		벽, 입기구	기구	바닥	
A	1	1	1	3	1/5
	2	1	0	1	1/5
B	1	0	1	2	2/5
	2	1	0	2	1/5
C	1	2	0	2	1/5
	2	0	0	2	2/5

¹ 육안 검사 후 먼지, 유기물 등이 확인되어 세척이 미흡한 것으로 판단된 장소 수

² 양성(불량)으로 확인된 수/총 검사 수

<표. 세척제 세척 후 효과 검사 결과>

농장	계사	육안검사 ¹			색전이센서 ²
		벽, 입기구	기구	바닥	
A	3	1	0	1	0/5
	4	0	0	0	0/5
B	3	0	0	1	1/5
	4	1	0	1	0/5
C	3	1	1	1	0/5
	4	0	0	0	0/5

¹ 육안 검사 후 먼지, 유기물 등이 확인되어 세척이 미흡한 것으로 판단된 장소 수

² 양성(불량)으로 확인된 수/총 검사 수

3) 고찰

- 세척 후 육안 검사를 실시한 결과 벽 및 입기구, 기구는 대조구와 시험구 간 큰 차이가 없으며 두 그룹 모두 세척 상태가 양호한 것으로 확인됨
- 바닥 세척상태 검사 시 육안 검사와 색전이센서 검사 결과 모두 세척제를 사용하였을 때 세척 상태가 물세척을 실시한 것에 비해 양호한 결과를 나타냄
- 벽, 입기구 및 기구의 경우 먼지가 쌓여있는 양이 많지 않지만 바닥의 경우 분변 및 깔짚 등에 의한 오염도가 매우 높기 때문에 세척제 사용 여부에 따른 차이가 발생한 것으로 판단됨
- 상기 결과로 판단할 때 계사 내 분변 제거율을 높이기 위해서는 세척제의 사용이 필수적인 것으로 보임

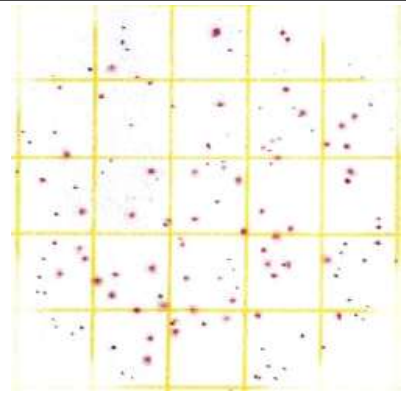
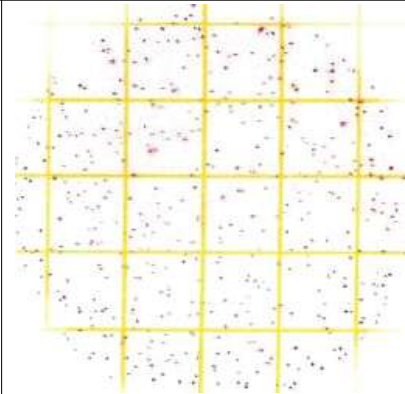
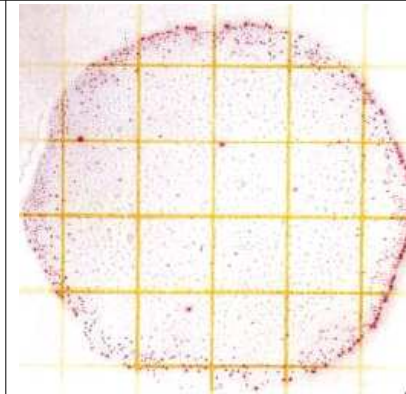
나. 세척제 적용 여부에 따른 소독 효과 실험

1) 실험방법

- 상기 세척 실험 진행 시 동시에 실험을 진행하였음
- 소독 효과를 실험하기 위하여 세균 수 검사 방법을 통하여 샘플링을 실시하였으며 패트리필름을 이용한 접촉식 샘플링 방법을 활용함 (샘플준비: 패트리필름에 멸균된 DW를 1ml 분주한 후 누름판으로 눌러 모양을 고정시켜 준 후 냉장 보관)
- 샘플링 사이트는 바닥, 벽면, 기구 등 세 군데로 구분하여 진행하였으며 각각의 사이트에서 6개의 샘플을 채취함
- 샘플링 시기는 세척전, 세척후, 소독 후 등 3회에 걸쳐 진행함
- 소독은 글루탈알데히드를 주성분으로 하는 소독제를 사용하여 진행하였으며, 희석배수

- 는 1:100으로 진행함 (제조사 권장사항: 유기물 많은 곳 소독 시 200배 희석)
- 육안검사를 실시한 후 육안검사 상 세척 상태가 가장 미흡해보이는 곳을 표기한 후 동일한 위치에서 샘플링을 실시하였으며 육안상 미흡한 곳이 없을 경우에는 세척이 가장 미흡할 가능성이 높은 구역(바닥의 갈라진 틈, 굴곡이 있는 곳, 급이기의 안쪽면 등)에서 샘플링을 실시함
 - 샘플링을 실시한 패트리필름을 실험실로 운반하여 37°C 인큐베이터에서 24~48시간 배양한 후 배양된 세균의 숫자를 파악함
 - 패트리필름 상의 세균 숫자는 아래의 방법을 통하여 계수함

<그림. 패트리필름 세균 숫자 산정 방법>

<ul style="list-style-type: none"> · 붉은 색으로 확인되는 점의 숫자를 센다. · 250개 이상의 colony가 확인될 경우에는 한 칸의 colony 수를 센 후 20을 곱하여 산정한다. · 만약 숫자를 세는 것이 불가능할 정도로 많을 경우에는 TNTC로 표기한다. 		
		
균수: 143	균수: 420	TNTC

2) 실험결과

<표. 농장 A 소독 효과 실험>

샘플		물세척			세척제		
샘플 장소	샘플 번호	세척전	세척후	소독후	세척전	세척후	소독후
바닥	1	TNTC	TNTC	420	TNTC	TNTC	400
	2	TNTC	TNTC	300	TNTC	TNTC	320
	3	TNTC	TNTC	460	TNTC	TNTC	65
	4	TNTC	TNTC	260	TNTC	TNTC	69
	5	TNTC	TNTC	480	TNTC	TNTC	320
	6	TNTC	TNTC	340	TNTC	TNTC	200
	평균	TNTC	TNTC	377	TNTC	TNTC	229
벽	1	TNTC	TNTC	168	TNTC	TNTC	98
	2	TNTC	TNTC	89	TNTC	TNTC	14
	3	TNTC	TNTC	76	TNTC	TNTC	26
	4	TNTC	TNTC	15	TNTC	TNTC	51
	5	TNTC	TNTC	54	TNTC	TNTC	9
	6	TNTC	TNTC	93	TNTC	TNTC	22
	평균	TNTC	TNTC	83	TNTC	TNTC	37
기구	1	TNTC	TNTC	196	TNTC	TNTC	51
	2	TNTC	TNTC	240	TNTC	TNTC	55

	3	TNTC	TNTC	136	TNTC	TNTC	32
	4	TNTC	TNTC	46	TNTC	TNTC	190
	5	TNTC	TNTC	33	TNTC	TNTC	45
	6	TNTC	TNTC	45	TNTC	TNTC	22
	평균	TNTC	TNTC	116	TNTC	TNTC	66

<표. 농장 B 소독 효과 실험>

샘플		물세척			세척제		
샘플장소	샘플번호	세척전	세척후	소독후	세척전	세척후	소독후
바닥	1	TNTC	TNTC	480	TNTC	TNTC	320
	2	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	195
	3	TNTC	TNTC	420	TNTC	TNTC	220
	4	TNTC	TNTC	480	TNTC	TNTC	340
	5	TNTC	TNTC	520	TNTC	TNTC	171
	6	TNTC	TNTC	155	TNTC	TNTC	360
	평균	TNTC	TNTC	510	TNTC	TNTC	268
벽	1	TNTC	TNTC	18	TNTC	440	34
	2	TNTC	TNTC	14	TNTC	TNTC	69
	3	TNTC	TNTC	20	TNTC	TNTC	94
	4	TNTC	TNTC	94	TNTC	TNTC	21
	5	TNTC	TNTC	81	TNTC	TNTC	26
	6	TNTC	TNTC	2	TNTC	TNTC	12
	평균	TNTC	TNTC	38	TNTC	TNTC	43
기구	1	TNTC	TNTC	105	TNTC	TNTC	33
	2	TNTC	380	75	TNTC	TNTC	22
	3	TNTC	TNTC	63	TNTC	TNTC	39
	4	TNTC	TNTC	39	TNTC	480	57
	5	TNTC	TNTC	40	TNTC	TNTC	19
	6	TNTC	TNTC	126	TNTC	TNTC	50
	평균	TNTC	TNTC	75	TNTC	TNTC	37

<표. 농장 C 소독 효과 실험>

샘플		물세척			세척제		
샘플장소	샘플번호	세척전	세척후	소독후	세척전	세척후	소독후
바닥	1	TNTC	TNTC	320	TNTC	TNTC	126
	2	TNTC	TNTC	400	TNTC	TNTC	68
	3	TNTC	TNTC	500	TNTC	TNTC	260
	4	TNTC	TNTC	340	TNTC	TNTC	238
	5	TNTC	TNTC	126	TNTC	TNTC	213
	6	TNTC	TNTC	165	TNTC	TNTC	320
	평균	TNTC	TNTC	309	TNTC	TNTC	204
벽	1	TNTC	TNTC	112	TNTC	TNTC	103
	2	TNTC	TNTC	77	TNTC	TNTC	75
	3	TNTC	TNTC	46	TNTC	TNTC	67
	4	TNTC	TNTC	104	TNTC	TNTC	61
	5	TNTC	TNTC	108	TNTC	TNTC	157
	6	TNTC	TNTC	388	TNTC	TNTC	34
	평균	TNTC	TNTC	139	TNTC	TNTC	83
기구	1	TNTC	TNTC	31	TNTC	TNTC	69

2	TNTC	TNTC	34	TNTC	TNTC	68
3	TNTC	TNTC	43	TNTC	TNTC	62
4	TNTC	TNTC	25	TNTC	TNTC	28
5	TNTC	TNTC	35	TNTC	TNTC	115
6	TNTC	TNTC	165	TNTC	TNTC	100
평균	TNTC	TNTC	56	TNTC	TNTC	74

3) 고찰

- 세척 후 세균 수 검사 결과 물세척, 세척제 세척 모두 소독 효과는 없는 것으로 확인됨
- 소독 후에도 유기물의 잔류가 많지 않은 벽과 기구에서는 두 그룹 모두 소독효과의 차이가 없는 것으로 확인됨
- 바닥의 경우 세척제를 사용하였을 때 물세척에 비하여 소독 후 높은 효과가 있는 것으로 나타남. 바닥의 경우 물세척만으로 충분하게 유기물의 제거가 이루어지지 않기 때문에 세척제사용 여부에 따른 소독 효과가 차이가 발생하는 것으로 판단됨
- 세척만으로 소독의 효과를 기대하기보다 추후 진행될 소독의 효과를 증대하기 위하여 세척 시 세척제를 사용하는 것이 필수적인 것으로 보임
- 실험 결과 바닥의 경우 다른 장소에 비하여 소독 후에도 오염도가 높은 것으로 확인됨. 이는 분변을 통하여 다수의 병원체가 분비되고 유기물이 배출되기 때문인 것으로 보임. 따라서 세척 소독 시에는 바닥에 대한 관리가 매우 중요한 것으로 판단됨

5. 농장 내 바이러스 제거 확인 시험

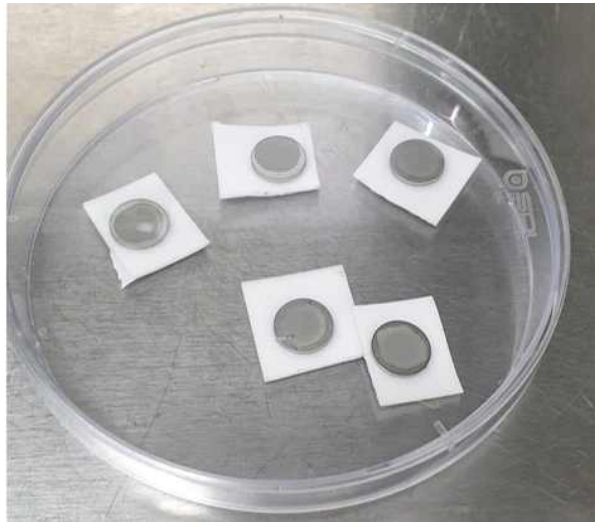
- 소독은 조류인플루엔자 발생 농장에서 실시 할 수 있는 가장 기본적인 핵심적인 바이러스 제거 기술임.
- 바이러스 소독을 위해 유기물의 제거는 필수적인 전 단계이므로 유기물의 제거가 확실히 이루어진 상태에서 이루어져야함
- 소독의 효과를 감소시키는 유기물은 물청소만으로도 제거가 되지만 효과적으로 제거하기 위해서는 계면활성제가 포함된 세척제를 사용하는 것이 필요함
- 소독제 자체의 효과도 중요하만 구조상 소독제의 적용이 어려운 부분에 대해서 소독의 효능이 검증 되어야 함.

가. 소독제 적용 여부에 따른 분변 제거 확인 실험

1) 실험방법

- 농가에 피해가 없는 사람 유래 바이러스인 A/PR/8/34 바이러스를 사용하여 실험을 진행한다.
- 바이러스 10^5 EID₅₀/ml을 Stainless still disc carrier에 100 μ L를 점적하여 건조 시킨 이후 농장 내에 적용함.
- 농장 내 적용 사이트는 바닥, 벽면, 기구 등 세 군데로 구분하여 진행하였으며 각각의 사이트에서 4개의 샘플을 채취함
- 4개의 샘플은 소독 이후 회수하여 3ml의 DMEM 배지가 담긴 Conical tube에 넣어 실험실로 이동함.
- 10일 유정란에 종란 접종을 통하여 각각의 종란에서 혈구 응집능을 확인함.

- 각 샘플 당 5개의 종란에 접종을 하였으며, 혈구 응집능 과약을 통하여 바이러스 분리를 확인함.
- 회수된 바이러스 200 μ l의 RNA를 추출하여 POCKIT Micro DUO를 이용하여 검출을 확인함
- Control 농가에서는 세척 이후 소독이 진행되지 않음



<그림. Stainless steel Disc Carrier>



<그림. 농가 내에 적용된 바이러스 디스크 캐리어>

2) 실험 결과

<표. 소독 이후 Disc Carrier 점적 바이러스에 대한 분리율>

샘플		바이러스 분리										Control	
샘플 장소	샘플 번호	농장 A		농장 B		농장 C		농장 D		농장 E			
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
바닥	1	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	2	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	3	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	4	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

벽	1	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5
	2	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5
	3	2/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5
	4	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
기구	1	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	3/5	0/5	0/5	2/5
	2	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	4/5
	3	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	4	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

<표. 소독 이후 POCKIT DUO를 이용한 Disc Carrier 점적 바이러스
검출>

샘플		POCKIT DUO 확인 결과										
샘플 장소	샘플 번호	농장 A		농장 B		농장 C		농장 D		농장 E		Control
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	
바닥	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
벽	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
	3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
기구	1	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
	2	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
	3	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

3) 고찰

- Disc Carrier를 이용한 바이러스 재분리 결과 바닥에서 바이러스의 재분리율이 낮음
- 물리적으로 씻겨내려 가는 바이러스가 적어 벽 및 기구 등에 바이러스가 많은 것으로 사료됨.
- 바이러스 재분리는 안되었지만 POCKIT DUO 상에서 바이러스가 확인 된 것을 보아, 바이러스는 소독으로 인해 불활화 되었고 바이러스의 유전자가 검출이 된 것으로 파악 됨.
- 소독이 실시되지 않은 대조군의 바이러스 재분리율이 가장 높음 (5/12)
- 소독 없이 적절한 세척으로도 어느정도 바이러스의 제거가 이루어지고 바이러스 잔존에

대비하여 소독으로 인한 불활화로 잔존 바이러스의 감염능을 줄일 수 있음.

- 기구 등 굴곡진 벽면이 존재하는 곳에서 바이러스의 분리 및 검출율이 높았음.
- 실험 조건 상 실제 발생농장에서 바이러스가 존재하기 어려운 부분에 인위적으로 고농도의 바이러스를 비치하였기 때문에, 실제 발생 농장에서의 상황과 차이가 있을 수 있음.

6. 재입식 매뉴얼 확립 및 적용

가. 재입식 매뉴얼 확립

- 1차년도에 비교 분석한 해외 및 국내의 재입식 매뉴얼과 함께 육종회사에서 보급하고 있는 세척 및 소독 가이드라인 내용을 수집 및 참고하여 재입식 매뉴얼을 작성하였음
- 본 과제에서 작성된 재입식 매뉴얼은 국내의 법령에서 벗어나지 않는 방향으로 작성하기 위하여 국내에서 발간된 “AI 긴급행동지침”은 기본으로 하고 있음
- 1차년도 분석결과에 따르면 국내 매뉴얼에서는 세척 소독과 관련된 구체적인 사항이 언급되어 있지 않아 매뉴얼만을 참고하여 세척 소독을 적절히 실행하기 어렵다는 단점이 있음
- 또한 세척 소독 효과 검증을 위한 점검표를 보면 육안으로 검사를 실시하는 항목만이 있어 객관적인 판단이 어렵다는 단점이 있음
- 본 매뉴얼은 상기와 같은 국내 매뉴얼의 단점을 보완하여 세척 소독 과정의 상세한 설명, 세척 소독의 효과에 대한 객관적 검증 방법을 제시하는 방향으로 작성됨 (붙임 1. 재입식 바이러스 제거 기술 매뉴얼 참조)

붙임. 재입식 매뉴얼 위한 바이러스 제거 기술 매뉴얼

재입식 바이러스 제거 기술 매뉴얼

● 본 매뉴얼은 AI 긴급행동지침의 “필수-세척 및 소독요령”의 내용을 기본으로 하고 있습니다.

※기중합성

- 발생농장의 세척 세척 및 소독은 시공에서 농장주와 공동으로 실시한다.
- 발생농장의 농장주는 재입식 시 2회 이상 세척 소독을 실시한다.
- 사군 관제단은 재주 1회 이상 발생농장의 세척 및 소독 실시여부를 점검하고, 점검결과를 각기중합을 통하여 AI 긴급행동지침에 입력한다.
- 농장별 오염원(사료, 깔짚, 물노, 등)에 대해 살처분 대기 처리 완료 후 48시간 이내 처리

※재소독 작업 및 시설 작업

- 발생농장 속의 1단계 소독
- 축사 내 배설 및 분뇨는 소독제(100ppm) 처리. 남은 농기는 축사별로 내부에 환풍으로 모아 생식 폐를 도포하거나 생식폐수 일도 또는 유로 소독제를 중탕분 살포한다. (2일 간격으로 3회 이상 소독 실시)

※훈증소독

- 약자형 및 불충분효과를 중 화합물의 세 척의 용자 화가분은 훈증소독제를 이용하여 소독을 실시한다. (축사 외 일체로 중화제, 소독은 12시간 이상 또는 훈증소독제 분할 및 용량에 맞춰된 시간이상 살지)

※환기

- 훈증소독을 실시한 다음에는 축사 내의 소독제 농도를 제거한다. (훈증소독 시간을 오버하여 실시하고, 훈증 12시간 이상 또는 소독제 용량에 맞춰진 소독시간 이상 경과 후 다음 날 아침까지 환기 실시)

1. 세척 소독 준비

- 1) 직역 용해된 세척 용액은 살균력이 세척 소독제(2%)의 농도를 위해서 필수적. 저산소 세균의 숫자와 밀접한 관련이 있는 요소(태양, 열, 염, 유기물 및 먼지 함)이 확실하게 제거되도록 하기 위해, 세척과 소독이 효과적으로 이루어질 수 있도록 세척 내부의 자재(물감)까지 같이 고압하여 씻는 것(세척)을 의무화 반복하여 세척을 비움.

2) 필요 물품

- 표도: 세척 기계
- 덮개: 덮개된 표도: 세균의 반출 (세균의 날립 현상을 방지하기 위하여 덮개 제거)
- 보호장비(모자, 장갑, 보안경): 작업자 안전 관리
- 빗자루, 양, 양이 세척 기계
- 고압분무기, 세척, 세척 기계

3) 세척 소독 준비

- 1단계: 닭이끼와 닭구멍을 원칙적으로 제거하여 뒤로 옮긴다.
- 2단계: 단상과 깔짚 등의 분리 가능한 자재는 세척 내부에서 반복하여 세척을 할 수 있는 위치로 이동한다.
- 3단계: 세척 내 고압되어 있는 자재(원자기, 연, 연도용기, 모리, 육주지 등)에서 인화물 제거를 통해 제거하기 위해 1단계 세척을 실시한다. 잔사 세척은 인제를 실시하는 과정에서 세척물(물)이 및 빗자루 등을 사용하여 진행한다.
- 4단계: 물품을 사용하는 물(세척 시 전자기기에 발생될 수 있는 손상에 대비하기 위하여)의, 빗자루 등을 사용하여 밀봉하여 방수처리할 한다.
- 5단계: 모리를 사용하는 세척 내 계관을 체크하여 정리한다. 2회 상하 후 바닥에 남아있는 계관 및 물품을 빗자루로 긁어내어 바닥에 잔여물이 남지 않도록 한다. 계관의 상하된 드레인은 물품을 밀어 내방을 정리하고 정밀한 세척 처리로 완료한다.
- 6단계: 배수로를 세척하고 30분간 수분을 물론 각자의 면적을 확인한다.
- 7단계: 고압분무기를 사용하여 물을 세척 내부에 분사하여 먼지를 제거한다. 분사 순서는 앞쪽, 중측, 바닥 순서로 진행한다.

4) 체크리스트

일일	체크 항목	예	아니오
1	물과 세척 용액의 농도를 측정했는가?		
2	작업자 개인 보호 장비(모자, 장갑, 보안경)를 착용했는가?		
3	고압분무기의 작동 여부를 점검했는가?		
4	세척 내부에 물감, 먼지, 부스러기가 있는가?		

2. 세척 세척

- 1) 모든 계관을 세척을 실시하기 전 세척 내부에 존재할 가능성이 있는 유해 세균 및 바이러스를 제거하기 위해, 유기물이 잔존할 경우 소독의 효과가 떨어질 수 있기 때문에 유기물을 효과적으로 제거하고자 함.

2) 필요 물품

- 고압분무기: 유기물 및 오염물질을 분할 제거
- 보호장비(모자, 장갑, 보안경): 작업자 안전 관리
- 세척제: 유기물의 효과적인 제거

3) 세척 절차

- 1단계: 세척 내부의 잔여 먼지 및 계관 등을 물로 세척한다. 세척 순서는 원상→축사→바닥의 순서로 진행한다. 손수레 사용할 수 있는 곳에서는 약 40% 이상의 농도로 세척을 한다. 손수레 사용할 경우 유기물 제거에 더욱 효과적이다. 물 세척 시 양수가 되지 않는 공간(기계)에 손수레를 이용하여 유해물을 제거한다.
- 2단계: 닭구멍, 환기를 통해 세척 내부에서 물 분사하여 세척하고 외부에서 물을 분사하여 다시 한 번 세척한다. 마지막으로 내부에서 다시 물을 분사하여 세척한다. (총 3회 세척) 닭구멍과 환기를 뚫은 인자가 다량 존재하여 흙 양이 많지 않다면 흙이 제거되지 않기 때문에 주의하여 세척한다.
- 3단계: 바닥을 물로 세척하여 세척을 진행한다. 바닥이 아닌 소독제(100ppm)에 방치된 계관(물)이 아닌, 세척에 의해 방치된 계관을 제거하여 진행한다. 세척 시 현상(물) 또는 바닥의 등지는 세척이 잘 되지 않기 때문에 꼭꼭 주의를 기울여야 한다.
- 4단계: 세척제를 사용하여 잔여 유기물과 세척제(100ppm)를 제거하여 준다. 세척제 사용 시 계관(물)에 분사하는 희석액을 기계 사용하도록 한다. 소독제와 긴장현상을 유발하여 소독 효과를 저하시키는 작용이 없는 세척을 진행하여 사용하도록 한다.
- 5단계: 세척제의 분사한 자재 세척 시 세척 내부 세척과 동일하게 물레 및 세척제 세척을 실시한다.
- 6단계: 세척 내부 세척 후 잔여물, 분사물, 세척제, 세척제, 세척제 등을 세척한다. 사료(물)의 분사(물)도 세척을 실시한다.
- 7단계: 세척 내부에서 분리된 자재의 세척이 완료된 후 세척 내부로 반입하여 소독을 실시하고, 세척 내부 바닥의 수분이 있을 경우 일대 등을 활용하여 제거하여 준다.

4) 체크리스트

- 육인 세척 환경을 통하여 잔존 유기물, 계관 등의 여부를 확인한다. 육인 상 세척상태가 불량할 경우에는 세척을 다시 실시한다.

<그림. 재입식 바이러스 제거 기술 매뉴얼>

나. 재입식 매뉴얼 현장 적용

1) 농가 선정

- 매뉴얼 현장 적용 시 일반적으로 진행되는 세척 및 소독 기간보다 시간이 많이 소요되는 관계로 상대적으로 시간적 여유가 있는 중계농장으로 선정하여 진행
- 5개 농장을 선정하여 진행하였으며 세척, 소독 매뉴얼을 배부한 후 농가에 방문하여 수행 방법을 교육 지도함
- 농장에서 세척 소독을 실시하는 날에는 농장에 직접 방문하여 매뉴얼에 부합하여 진행이 되고

있는지 점검 실시

표. 시험농장 정보

구분	축종	농가code	지역	비고
1	종계	A	충남 예산	육성
2		B	충남 예산	육성
3		C	충북 음성	성계
4		D	충북 보은	성계
5		E	전북 무주	성계

2) 매뉴얼 현장 적용 방법

- 세척 및 소독 방법은 모두 매뉴얼에 제시된 방법에 따라 진행되었으며 아래와 같이 실행함
- 건식세척 후 계분 제거 작업 실시. 1차 세척제 세척, 2차 물세척을 진행
- 급이기 세척을 계사 물청소와 동시에 진행
- 급수기 세척 실시
- 육안검사 및 색전이센서 검사 실시, 세척 미흡한 경우 추가 세척 실시
- 1차, 2차 소독 진행 (제조사 권장 희석배수보다 2배 진하게 희석)
- 소독효과 검증(세균 수 검사, 바이러스 제거 검사, 검사 결과 미흡한 경우 추가 소독 실시)



<그림 매뉴얼 현장 적용 실험 개요>

3) 매뉴얼 현장 적용 세척효과 검증 결과

- A농장: 터널환기팬 라이트트랩의 세척 상태가 미흡한 것으로 확인되어 재세척을 실시하였으며 세척 후 양호해짐
- B농장: 세척 상태 매우 양호하였음
- C농장: 바닥 일부에서 깔짚으로 판단되는 잔여물이 확인되어 재세척 실시, 세척 후 양호
- D농장: 벽면 입기구 하단에서 먼지가 세척되지 않은 곳은 세균데 확인 됨, 즉시 부분적 재세척을 실시하였으며 세척후 양호
- E농장: 난상내부 세척이 미흡한 곳 2군데 확인되어 부분적 재세척을 실시, 세척 후 양호
- 매뉴얼을 적용한 5개 농장 모두 색전이센서 검사 결과 음성으로 확인됨

표. 현장 적용 농장 세척 효과 검사 결과

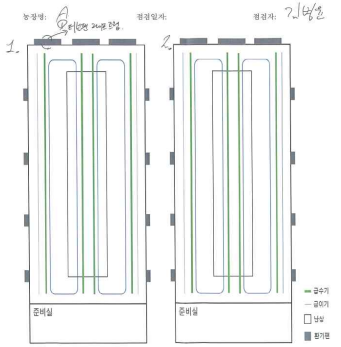
농장	계사	육안검사 ¹	색전이센서 ²

		벽, 입기구	기구	바닥	
A	1	1	0	0	0/5
	2	0	0	0	0/5
B	1	0	0	0	0/5
	2	0	0	0	0/5
C	1	0	0	1	0/5
	2	0	0	0	0/5
D	1	3	0	0	0/5
	2	0	0	0	0/5
E	1	0	2	0	0/5
	2	0	0	0	0/5

¹ 육안 검사 후 먼지, 유기물 등이 확인되어 세척이 미흡한 것으로 판단된 장소 수

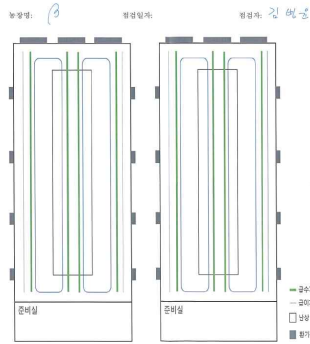
² 양성(불량)으로 확인된 수/총 검사 수

세척 상태 육안 점검 기록지



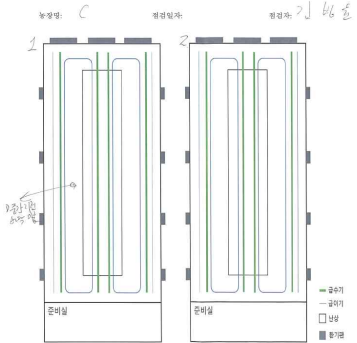
*점검 방법
- 검사 전제를 순회하여 세척이 미흡한 곳(먼지, 배설, 것됨 등)을 표시하고 세부사항을 메모한다.

세척 상태 육안 점검 기록지



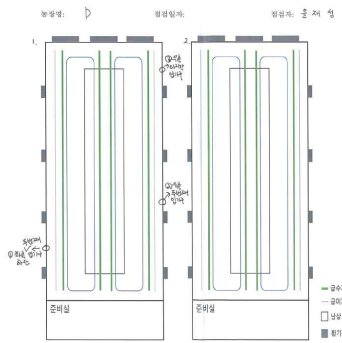
*점검 방법
- 검사 전제를 순회하여 세척이 미흡한 곳(먼지, 배설, 것됨 등)을 표시하고 세부사항을 메모한다.

세척 상태 육안 점검 기록지



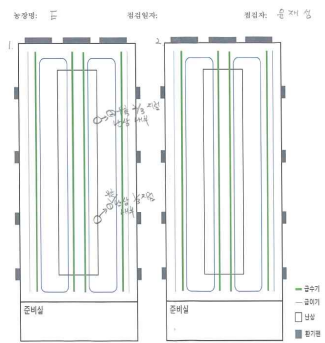
*점검 방법
- 검사 전제를 순회하여 세척이 미흡한 곳(먼지, 배설, 것됨 등)을 표시하고 세부사항을 메모한다.

세척 상태 육안 점검 기록지



*점검 방법
- 검사 전제를 순회하여 세척이 미흡한 곳(먼지, 배설, 것됨 등)을 표시하고 세부사항을 메모한다.

세척 상태 육안 점검 기록지



*점검 방법
- 검사 전제를 순회하여 세척이 미흡한 곳(먼지, 배설, 것됨 등)을 표시하고 세부사항을 메모한다.

<그림. 현장 적용 농장 세척효과 육안 검사 결과 기록표>



환기팬 라이트트랩 세척 미흡
그림 A농장 세척 육안검사 시 미흡사항

재세척 실시->



세척 상태 양호



입기구 하단 세척 미흡
그림 D농장 세척 육안검사 시 미흡사항

재세척
실시->



세척상태 양호



난상 내부 세척 미흡

재세척 실시->



세척상태 양호

<그림 E농장 세척 육안검사 시 미흡사항>

4) 매뉴얼 현장 적용 소독효과 검증 결과

- 세균수 검사: 사전 검사에서 세척 후에도 TNTC의 세균숫자가 확인되는 것을 감안하였을 때 세균수가 상당한 수준으로 감소한 것으로 보임. 소독 효과 양호한 것으로 판단
- 바이러스 검사 결과: 사람 유래 바이러스인 A/PR/8/34 H1N1 바이러스를 스테인리스 스틸 디스크에 점적하여 말린 뒤 농장 내 벽, 입기구, 기구, 바닥 등에 붙이고 소독 이후 회수하여 바이러스 재분리를 진행함. 실험실 내 종란 접종을 통한 재분리 실험을 병행함. 대부분의 경우 소독이 잘되었음을 확인함. 세균이 많이 검출된 계사에서 바이러스 재분리율도 높았음.

농장	계사	세균 수 검사(페트리필름) ¹			바이러스 검사결과 재분리
		벽, 입기구	기구	바닥	
A	1	35	11	218	2/12
	2	21	4	65	0/12
B	1	7	1	75	0/12
	2	16	30	85	0/12
C	1	18	11	90	0/12
	2	11	65	153	0/12
D	1	25	24	176	0/12
	2	88	22	103	1/12
E	1	45	9	167	0/12
	2	78	23	121	0/12

¹ 각 사이트 당 페트리필름 4장을 검사한 결과의 평균값

5) 매뉴얼 현장 적용 고찰

- 매뉴얼 적용하여 세척을 실시하였으나 일부 세척 미흡한 곳 확인되어 재세척을 실시하였으며 이후 재검사 시 양호한 것으로 확인됨. 색전이센서 검사 시에는 모두 양호한 것으로 확인됨
- 농장에서 세척 시 눈에 보이지 않는 부분(라이트트랩, 급이기 안쪽, 난상 안쪽, 벽면 입기구 하단 등)에 대한 세척이 미흡한 경우가 많았음. 세척 상태 육안점검 시 점검자는 이러한 부분에 대

한 각별한 주의를 기울여 검사하는 것이 필요할 것임

- 소독 상태는 검사 결과 모두 양호한 것으로 확인되어 정해진 방법을 준수한다면 재입식에 문제가 없을 것으로 판단됨
- 효과적인 세척 및 소독을 위해서는 매뉴얼에 따라 실행하는 것이 매우 중요하지만 객관적으로 세척 및 소독의 효과를 검증하고 평가하는 것이 무엇보다 중요함. 평가를 통해 작업자가 놓친 부분을 보강할 수 있기 때문에 평가자는 세심하게 주의를 기울여 관찰 및 샘플링을 실시하여야 함

다. 매뉴얼 현장 적용 후 개선 및 피드백

1) 세척효과 육안검증 시 주요 관찰 장소 설정

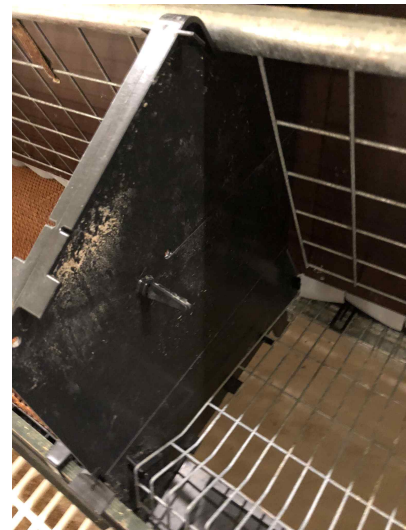
- 세척효과 육안검증 시 평가자의 주요 관찰 장소에 대한 문의가 있었음
- 육안검증 은 전체적인 계사의 세척상태를 확인하는 것이기 때문에 일부 장소만을 특정지어 검사하는 것은 검사의 취지와 일치하지 않음. 하지만 세척 시 작업자가 눈으로 확인할 수 없는 장소를 좀 더 면밀히 검사하는 작업은 필요할 것으로 사료됨
- 농장 적용 실험을 진행하면서 계사의 세척상태 점검 시 가장 빈번하게 세척이 미흡하게 확인된 곳은 라이트트랩, 급이기 안쪽, 난상 안쪽, 벽면 입기구 하단, 급수기 하단, 각종 기구가 설치된 접합부 등이었음
- 육안검증 항목에서 상기 언급된 사항에 대해 언급된 부분을 매뉴얼 상에 추가하였음



환기팬 라이트트랩



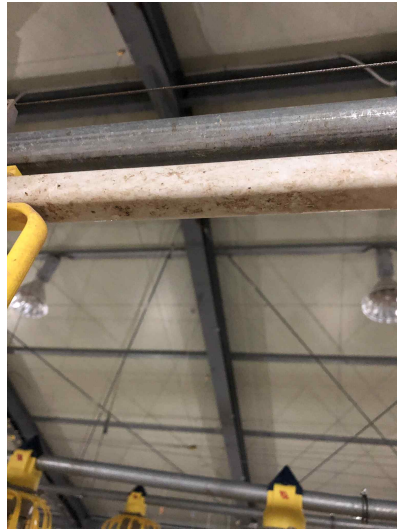
급이기 내부



난상 내부



벽면 입기구 하단



급수기 하단



기구 설치부

2) 소독 효과 세균 수 검증 시 권장 샘플링 장소 설정

- 소독 효과 세균 수 검증 시 샘플링 위치에 대한 문의가 있었음. 계사 별 4개의 샘플링을 실시하기 때문에 위치선정에 대한 어려움이 있는 것으로 파악됨
- 세척 및 소독 과정이 매뉴얼 상에 제시된 대로 이루어졌다면 샘플링의 위치는 큰 관계가 없지만 가급적 세척과 소독이 가장 미흡할 것으로 예상되는 곳을 샘플링 하는 것이 적절함
- 상기 세척 육안 검사 시 주요 장소들을 비롯하여 소독액이 분사되기 어려울 것으로 예상되는 지점을 샘플링 하는 것이 필요함
- 구역 별 샘플링 권장 사이트는 아래와 같으며 내용을 매뉴얼에 추가함

	바닥	벽 및 입기구	기구 (급이기, 급수기 등)
샘플 수	4 개	4 개	4 개
세부 사항	바닥과 벽이 닿는 곳 근처, 균열이 있는 곳, 육안상 지저분해 보이는 곳 등을 선정하여 샘플링	팬 덮개, 벽면 입기구 하단, 벽면 등을 샘플링	급이기 내부, 니플캡, 난상 내부 등을 샘플링

3) 소독 효과 검증 시 세균 수 결과 해석 가이드라인 설정

- 소독 후 세균 수 검사를 실시한 후 결과 해석에 대한 가이드라인 설정에 대한 문의가 있었음
- 육용중계회사 A사는 자체 내부농장에 대한 규정으로는 400개 이하의 세균이 검출될 경우 양호한 것으로 판단하고 있지만 공통적으로 통용되는 가이드라인은 없는 상황임
- 본 연구를 통해 진행된 8개 농장 16개 계사의 실험 결과와 자체적으로 진행되었던 4개 농장 56개 계사의 실험결과를 정리한 결과 세균수 평균은 벽 51, 바닥 134, 기구 62로 확인되었음
- 정확한 가이드라인 값을 규정할 수는 없지만 매뉴얼에 따라 세척 소독을 실시한 농장들의 결과 값을 참고로 세척/소독 상태를 평가할 수 있을 것으로 기대됨

표 농장 별 소독 후 세균 검사 결과

구분	농장	계사수	세균 수 검사(페트리필름) ¹		
			벽, 입기구	기구	바닥
자체 농장	1	10	59	46	153
	2	10	13	117	163

	3	8	38	58	103
	4	20	83	68	118
실험 농장	A	2	50	56	121
	B	2	25	42	223
	C	2	56	48	162
	D	2	28	8	142
	E	2	12	16	80
	F	2	15	38	122
	G	2	57	23	140
	H	2	62	16	144
평균값			51	62	134

¹ 각 사이트 당 페트리펄름 4장을 검사한 결과의 평균값

4) 세정제 사용으로 인한 세척 기간 연장

- 농장 세척 시 세정제를 사용할 경우 다량의 거품이 발생되어 물세척만 실시할 때와 비교할 때 2배 이상의 시간이 소요되어 농장에서 적용하기 힘들다는 불만을 호소함
- 기존 농장들의 경우 일반적으로 물세척 만을 진행하여 세정제를 사용한 거품 세척에 익숙하지 않음을 고려할 때 도출될 수 있는 의견임
- 하지만 본 매뉴얼은 기본적으로 농장의 바이러스 제거 후 재입식을 하기 위한 과정으로 확실한 세척 및 소독 효과가 있는 과정을 진행해야 함. 또한 실험결과 세정제 사용 시 소독 효과가 증대됨을 확인하였기 때문에 본과정의 삭제는 불가함. 농장 관계자에게 본 매뉴얼의 작성 의도와 세척제 사용에 대한 긍정적인 효과에 대한 의견을 전달하였으며 농장에서도 수긍함

재입식 바이러스 제거기술 매뉴얼

- 본 매뉴얼은 AI긴급행동지침의 ' 청소·세척 및 소독요령 '의 내용을 기본으로 하고 있습니다.

<기본원칙>

- 발생농장의 최초 세척 및 소독은 시·군에서 농장주와 공동으로 실시한다.
- 발생농장의 농장주는 재입식 시까지 주 2회 이상 세척·소독을 실시한다.
- 시·군 관계관은 매주 1회 이상 발생농장의 세척 및 소독 실시여부를 점검하고, 점검결과를 국가동물 방역시스템(KAHIS)에 입력한다.
- 농장내 오염물(사료, 깔짚, 분뇨 등)에 대해 살처분·폐기 처리 완료 후 48시간 이내 처리

<세척·소독 작업 전 사전 작업>

- ° 발생농장 축사 1단계 소독
 - 축사 내 바닥 및 분뇨에 소독처리가 되지 않은 농가는 축사별로 내부에 한곳으로 모아 생석회를 도포하거나 생석회수 살포 또는 유효 소독제를 충분히 살포한다. (2일 간격으로 3회 이상 소독실시)
- ° 훈증소독
 - 약사법 및 동물용의약품 등 취급규칙 에 따라 품목 허가받은 훈증소독제를 이용하여 소독을 실시한다. (축사 내 밀폐가 중요하며, 소독은 12시간 이상 또는 훈증소독제 용법 및 용량에 명시된 시간이상 실시)
- ° 환기
 - 훈증소독을 실시한 다음에는 축사 내의 소독제 냄새를 제거한다. (훈증소독 시간을 오전에 실시하고, 훈증 12시간 이상 또는 소독제 용법에 명시된 소독시간 이상 경과 후 다음 날 아침까지 환기 실시)

1. 세척 소독 준비

1) 목적: 올바른 계사 준비는 성공적인 세척 소독프로그램의 운용을 위해서 필수적. 계사내 세균의 숫자에 영향을 줄 수 있는 요소들(해충, 깔짚, 유기물 및 먼지 등)이 확실히 제거되도록 하기 위함. 세척과 소독이 효과적으로 이루어질 수 있도록 계사 내부의 자제들(급이기와 같이 고정되어 있는 것 제외)을 외부로 반출하여 계사를 비움.

2) 필요 물품

- 로더: 계분 제거
- 덮개가 설치된 트럭: 계분의 반출 (계분의 날림 현상을 방지하기 위하여 덮개 설치)
- 보호장비(모자, 장갑, 보안경): 작업자 안전 관리
- 빗자루, 삽: 잔여 계분 제거
- 고압분무기, 세제: 계사 물세척

3) 세척 소독 준비 절차

- 1 단계: 급이기와 급수기를 윈치를 사용하여 위로 올린다.
- 2 단계: 난상과 슬랫 등의 분리가 가능한 자제를 계사 내부에서 반출하여 세척을 할 수 있는 위치로 이동한다.
- 3 단계: 계사 내 고정되어 있는 자제(전자기기, 센서, 컨트롤러, 모터, 육추기 등)에서 먼지와 거미줄 등을 제거하기 위하여 건식 세척을 실시한다. 건식 세척은 먼지를 털어내는 과정으로 에어블로우어 및 빗자루 등을 사용하여 진행한다.
- 4 단계: 물을 사용하는 습식세척 시 전자기기에 발생할 수 있는 손상에 대비하기 위하여 비닐, 방수포 등을 사용하여 밀봉하여 방수처리를 한다.
- 5 단계: 로더를 사용하여 계사 내 계분을 트럭에 상차한다. 트럭 상차 후 바닥에 남아있는 계분 및 깔짚을 빗자루로 쓸어내어 바닥에 잔여물이 남지 않도록 한다. 계분이 상차된 트럭은 덮개를 덮어 날림을 방지하고 지정된 계분 처리소로 운반을 한다.
- 6 단계: 배수로를 세척하고 사료빈 주변을 물론 적셔서 먼지를 불려준다.
- 7 단계: 고압분무기를 사용하여 물을 계사 내부에 분사하여 먼지를 불려준다. 분사 순서는 천장, 측벽, 바닥 순서로 진행한다.

4) 체크리스트

연번	체크 항목	예	아니요
1	급이기 및 급수기를 위로 올렸는가?		
2	제거가 가능한 자제는 모두 계사 외부로 반출하였는가?		
3	고정되어 있는 자제를 건식세척하고 방수처리를 하였는가?		
4	계사 내부를 미리 적셔 두었는가?		

2. 계사 세척

1) 목적: 새로운 계관을 입식하기 전 계사 내부에 존재할 가능성이 있는 유해한 세균 및 바이러스를 제거하기 위함. 유기물이 잔존할 경우 소독의 효과가 절감될 수 있기 때문에 유기물을 효과적으로 제거하고자 함.

2) 필요 물품

- 고압분사기: 유기물 및 오염물질 등을 제거
- 보호장비(모자, 장갑, 보안경): 작업자 안전 관리
- 세척제: 유기물의 효과적인 제거

3) 세척 절차

- 1 단계: 계사 내부의 잔여 먼지 및 계분 등을 물로 씻어낸다. 세척 순서는 천장->측벽->바닥의 순서로 진행한다. 온수를 사용할 수 있는 곳에서는 약 40°C 이상의 온도로 세척을 한다. 온수를 사용할 경우 유기물 제거에 더욱 효과적이다. 물 세척 시 방수가 되지 않는 전자기기에 손상을 입히지 않도록 유의하여 진행한다.
- 2 단계: 입기구, 환기용 팬을 계사 내부에서 물을 분사하여 세척하고 외부에서 물을 분사하여 다시 한 번 세척한다. 마지막으로 내부에서 다시 물을 분사하여 세척한다. (총 3회 세척) 입기구와 환기용 팬은 먼지가 다량 존재하며 흙 등이 많아 먼지 등 잔여물이 잘 제거되지 않기 때문에 주의하여 세척한다.
- 3 단계: 바닥을 물로 세척하여 세척을 진행한다. 바닥을 마지막으로 세척하기 때문에 먼지나 계분등이 이미 세척한 벽 등에 튀지 않도록 주의하여 진행한다. 세척 시 연결부위 혹은 바닥의 틈새는 세척이 잘 되지 않기 때문에 특히 주의를 기울여야 한다.
- 4 단계: 세척제를 사용하여 잔여 유기물과 바이오필름 등을 제거하여 준다. 세척제 사용 시 제조사에서 권장하는 희석비율을 지켜 사용하도록 한다. 소독제와 간섭현상을 유발하여 소독 효과를 저해하는 성분이 없는 제품을 선정하여 사용하도록 한다.
- 5 단계: 계사에서 분리한 자체 세척 시 계사 내부 세척과 동일하게 물세척 및 세척제 세척을 실시한다.
- 6 단계: 계사 내부 세척 후 준비실, 종관보관실, 사무실, 계사 외벽 등을 세척한다. 사료빈과 원수탱크도 세척을 실시한다.
- 7 단계: 계사 내부에서 분리한 자체의 세척이 완료된 후 계사 내부로 반입하여 조립을 실시하고, 계사 내부 바닥에 다량의 수분이 있을 경우 밀대 등을 활용하여 제거하여 준다.

4) 체크리스트

- 육안 세척 점검을 통하여 잔존 유기물, 계분 등의 여부를 확인한다. 육안 상 세척상태가 불량할 경우에는 세척을 다시 실시한다.

연번	체크 항목	예	아니요
1	바닥 확인 시 연결부위 및 틈새의 세척 상태가 양호한가?		
2	천장, 바닥 및 측벽에 유기물, 먼지 등이 존재하는가?		
3	분리가 불가능한 장비에 먼지, 유기물 등이 존재하는가?		
4	급수기, 급이기에 먼지 유기물 등이 존재하는가?		

3. 급이시스템 세척

1) 목적: 잔존 사료 및 급이시스템에 잔존할 수 있는 유해한 세균 및 바이러스를 제거하고자 함

2) 필요 물품

- 솔: 사료빈 등의 먼지를 제거
- 고압분사기: 물세척을 통하여 유기물 및 먼지 제거
- 보호장비(안전바): 외부 사료빈 세척 시 추락 방지

3) 급이시스템 세척 절차

- 1 단계: 사료빈 내부 사료를 제거한다. 도태 전 닭에게 모두 급이하거나 도태 후 세척을 실시하기 전에 급이기를 가동하여 사료빈을 비울 수 있다.
- 2 단계: 체인급이기의 경우 체인을 분리한 후 계사 내부 세척과 동일한 과정으로 세척을 실시한다. 팬급이기의 경우에는 급이기 바닥을 분리한 후 바닥과 급이기 내부를 개별적으로 세척한다.
- 3 단계: 계사 내부의 사료 호퍼가 있는 경우 호퍼의 파이프 연결부위를 분리한다. 분리가 불가능한 농장의 경우 호퍼 내부 벽 등을 솔로 털어낸다.
- 4 단계: 호퍼 내부의 먼지를 제거한 후 고압세척기를 사용하여 먼지 등을 제거한다.
- 5 단계: 외부 사료빈의 하단 오거와 연결되는 부분을 분리하여 내부의 오거를 제거한다. 사료빈 청소 시 상단->하단->오거->파이프 내부 순서로 세척을 실시한다. 사료빈 세척 시 높은 곳에서 작업을 실시하기 때문에 작업자의 안전에 주의하여 작업을 한다.
- 6 단계: 사료빈 세척 및 건조가 완료되면 내부 및 외부에 소독을 실시한다. 소독 시 소독제 제조업체의 권장사항에 맞추어 소독제를 희석하여 사용한다.
- 7 단계: 소독이 끝난 후 분해하였던 사료빈 및 급이 시스템을 조립한다.
- 8 단계: 추가 소독이 필요한 경우에는 조립이 완료된 후 훈증 소독을 실시한다.

4. 급수시스템 세척

1) 목적: 급수 시스템 내부에 잔존할 수 있는 유해한 세균 및 바이러스를 제거하고자 함. 급수시스템 내부에 바이오필름이 존재할 경우 미생물이 사멸되지 않기 때문에 바이오필름을 제거하고자 함.

2) 필요 물품

- 급수시스템 소독제(과산화 수소, 과초산 제제): 바이오필름 제거
- 샘플링 용기: 급수 시스템 세척 및 소독 효과 검증

3) 급수시스템 세척 절차

- 1 단계: 급수기 및 계사 물탱크에 있는 물을 완전히 배수한다.
- 2 단계: 급수 라인을 깨끗한 물로 플러싱(고압으로 물을 흘려 씻어냄)을 실시한다. 플러싱을 실시할 때는 퇴수밸브가 열려있는지 확인한다.
- 3 단계: 계사 물탱크가 있는 경우에는 수세미 등을 활용하여 물탱크의 내부를 세척한다. (바이오필름, 스케일 등을 제거)
- 4 단계: 과산화수소 및 과초산이 포함된 소독제를 제조사의 권장사항에 맞추어 희석한 후 급수라인을 채워준다. 이 때 급수라인 내부에 공기가 없이 소독제로 가득 채워야 한다. 만약 공기가 있을 경우 급수라인 중 일부 구간은 소독제가 채워지지 않는다. 소독제를 채워 넣은 후 24~48 시간 동안 배수하지 않고 침지하여 둔다.
- 5 단계: 침지가 완료된 후 퇴수구를 열어 소독제를 급수라인에서 제거한다. 소독제를 제거한 후 깨끗한 물을 흘려보내 소독제가 급수라인에 잔류하지 않도록 한다.
- 6 단계: 세척 및 소독이 완료된 후 급수기 말단에서 샘플용기에 물을 채취한 후 세균 검사를 실시한다. (세척 및 소독 효과 검증)

4) 체크리스트

- 세균 검사를 실시한 후 불량으로 확인될 경우 소독을 재실시한다.

세균 숫자(cfu/ml)	우수	양호	불량
총 세균수	0 - 100	101 - 300	301 이상
대장균	0	0	1 이상
슈도모나스	0	0	1 이상

5. 세척 상태 점검

1) 목적: 세척상태의 검증은 계사 내부의 오염물질이 물리적으로 효과적으로 제거되었는지 확인하기 위함. 세척이 적절히 이루어 져야 소독의 효과를 높일 수 있음

2) 필요 물품

- 옷, 장화: 농장 출입 시 방역복 혹은 농장의 작업복을 착용
- 카메라: 세척 상태 점검 사진 저장
- 펜, 종이: 점검 결과 기록
- 색전이센서 시약: 계사 바닥의 분변 잔존 여부 확인

3) 세척 상태 점검 절차

- 1 단계: 샘플링을 실시하기 전 농장의 계사는 건조가 이루어진 상태이어야 한다. 세척이 완료된 상태이기 때문에 오염의 방지를 위하여 농장의 방역 절차에 따라서 사위실시, 옷, 신발 등을 교체한 후 출입하도록 한다.
- 2 단계: 육안검사 시 계사 전체를 순찰하여 세척이 미흡한 곳을 체크한다. 먼지가 쌓여있거나 깃털, 분변 등이 표면 및 틈새에 있을 경우 미흡한 것으로 간주한다. 바닥의 홈과 갈라진 틈새, 벽면 입기구 하단, 라이트트랩, 난상 내부, 급이기 내부, 구석진 곳 등 세척 시 육안으로 관찰이 어려운 곳을 특히 주의 깊게 살펴본다.
- 3 단계: 색전이 센서는 육안검사 시 세척이 미흡한 것으로 판단된 곳을 우선적으로 적용한다. 만약 세척 상태가 양호하여 육안검사 시 미흡한 곳이 확인되지 않았을 경우에는 바닥의 갈라진 틈이나 홈, 굴곡이 있는 지점 등에 적용한다.



- 4 단계: 색전이센서 검사 위치에 검사 시약을 도포한 후 약 30초간 대기한다. 적용 후 색이 푸른 색으로 바뀔 경우 분변이 잔존하는 것으로 판단한다. 만약 색이 변하지 않을 경우에는 분변이 없는 것으로 판단한다.

4) 결과 해석

- 육안 검사 및 색전이센서 검사 결과 세척이 미흡한 곳 확인 시 재세척을 실시한다. 오염 부분이 국소적일 경우 부분 세척이 가능하지만 광범위한 구역이 미흡할 경우 전체적으로 재세척을 실시한다.
- 재세척을 실시한 후 다시 육안검사와 색전이센서 검사를 실시하여 점검한다.

6. 계사 소독

1) 목적: 농장 관리의 필수적인 항목으로 새로운 계군을 입식하기 전 농장에 잔류할 수 있는 병원성 미생물(세균, 바이러스 등)을 제거하고자 함.

2) 필요 물품

- 고압세척기: 소독제 분사
- 등짐분무기: 소독제 분사
- 보호장비(보호의, 모자, 장갑, 보안경, 마스크): 작업자 안전 관리
- 소독제: 계사 소독

3) 계사 소독 절차

- 1 단계: 소독 전 계사가 완전히 건조가 되어 있어야 하며 세척이 확실하게 확실히 진행이 되었음을 확인해야 한다. 유기물 존재 시 소독제 효과가 감소할 수 있다.
- 2 단계: 소독제가 피부에 닿거나 흡입할 경우 건강 문제를 일으킬 위험성이 있기 때문에 소독 전 작업자는 보호장비를 완전히 갖추어 착용한 후 작업을 시작해야 한다.
- 3 단계: 소독액 준비 시 제조사의 권장사항에 맞추어 소독제를 희석해야 한다. 소독제를 희석한 후 천장->벽->바닥의 순서로 소독을 진행한다. 소독 시 벽면이 충분히 젖을 정도의 양을 분사하여야 한다. 계사 소독이 끝난 후 준비실, 종란보관실, 기구보관실, 사무실 등 농장의 모든 시설에 대하여 소독을 실시해야 한다.
- 4 단계: 소독이 완료된 후 환기 시설을 가동하여 계사를 건조시켜 준다. 만약 훈증 소독을 실시하는 농장의 경우에는 약간의 습기가 남아있을 정도로 건조시켜 주며, 훈증 소독을 실시하지 않는 경우에는 완전히 건조시킨다.
- 5 단계: 건조 후 2차 소독을 실시한다. 3 단계와 4 단계 과정을 반복한다.
- 6 단계: 훈증 소독을 실시하는 경우에는 건조 후 습기가 남아있는 상태에서 즉시 실시한다. 계사 환경은 효과적인 소독 효과를 위해서 온도는 21°C, 상대습도는 65~70%로 유지해 준다. 훈증 소독 중에 문과 환기용 입기구 등을 모두 완전히 밀봉한다. 훈증 소독 24 시간 후 환기 시스템을 작동하여 배기한다. 소독제 성분이 완전히 제거된 후 계사에 출입한다.

7. 소독효과의 검증

1) 목적: 소독효과의 검증은 새로운 계군이 입식되기 전에 유해한 미생물이 남아있지 않음을 확인하고 미흡할 경우 추가 조치를 취하기 위함. 지속적인 소독효과 모니터링을 통하여 농장의 위생상태 유지 경향을 파악하고 취약한 부분에 대해 보강할 수 있는 자료를 제공함.

2) 필요 물품

- 옷, 장화: 농장 출입 시 방역복 혹은 농장의 작업복을 착용
- 장갑: 샘플링 시 착용
- 페트리필름: 세척 후 농장의 소독효과 검증을 위한 샘플링 도구

3) 소독효과 검증 절차

- 1 단계: 샘플링 도구 준비 - 페트리필름에 1ml의 멸균된 증류수를 분주한 후 누름판으로 눌러준다. 약 1시간 동안 상온에서 건조한 후 냉장 보관한다.
- 2 단계: 샘플링을 실시하기 전 농장의 계사는 완전하게 건조가 이루어진 상태이어야 한다. 소독이 완료된 상태이기 때문에 추가적인 오염의 방지를 위하여 농장의 방역 절차에 따라서 샤워실시, 옷, 신발 등을 교체한 후 출입하도록 한다.
- 3 단계: 샘플링 장소 선정 - 세척 및 소독이 잘 이루어 지지 않는 부분을 선정하여 진행하며 각각의 장소 별로 4개의 페트리필름으로 샘플링을 실시한다. 샘플링을 실시하는 장소는 아래와 같다.

	바닥	벽 및 입기구	기구 (급이기, 급수기 등)
샘플 수	4개	4개	4개
세부 사항	바닥과 벽이 닿는 곳 근처, 균열이 있는 곳, 욕안상 보이는 곳 선정하여 샘플링	팬 덮개, 벽면 입기구 하단, 벽면 등을 샘플링	급이기 내부, 니플캡, 난상 내부 등을 샘플링

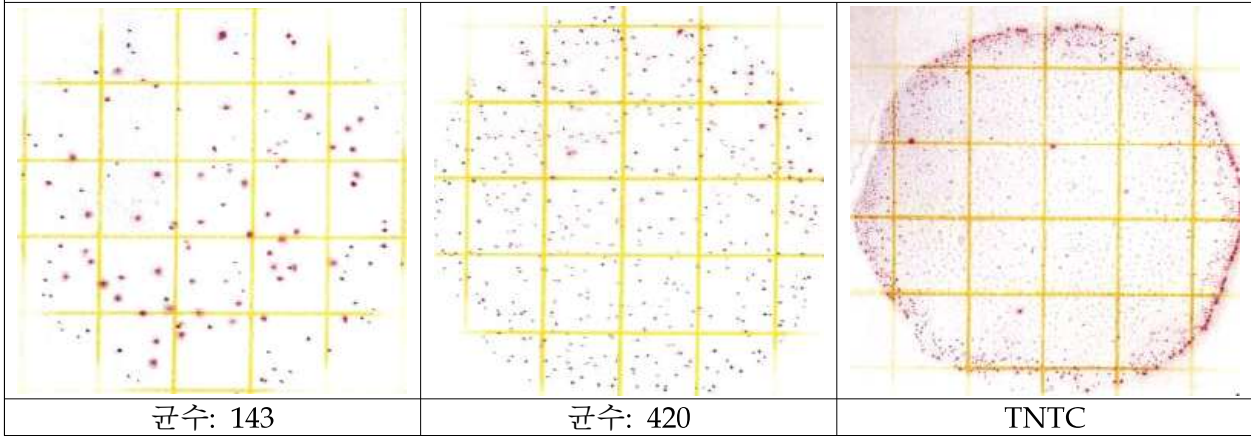
- 4 단계: 페트리필름으로 샘플링을 실시하기 전 절대로 필름이 다른 곳과 접촉하지 않도록 주의한다. 샘플링 시 벽면에 직접 접촉하여 표면을 부드럽게 문질러 준 후 떼어낸다. 샘플링이 끝난 필름은 지퍼백 등에 포장하여 오염이 일어나는 것을 방지한다.
- 5 단계: 샘플링이 끝난 샘플은 37°C 배양기에 넣고 24~48시간 동안 배양한 후 배양된 세균의 숫자를 확인한다.

4) 결과 해석

- 세균 수 산정 방법은 아래와 같은 방법으로 진행한다.

<ul style="list-style-type: none"> · 붉은 색으로 확인되는 점의 숫자를 센다. · 250개 이상의 colony가 확인될 경우 한 칸의 colony 수를 센 후 20을 곱하여 산정한다.
--

· 만약 숫자를 세는 것이 불가능할 정도로 많을 경우에는 TNTC로 표기한다.



- 세균 수를 확인한 후 결과가 미흡할 경우에는 추가 소독을 고려하여야 한다. 재소독 시에는 소독 후 다시 샘플링을 실시하여 소독의 적절성 여부를 확인한다.
- 매뉴얼에 따라 세척 및 소독 과정을 진행하였을 때 예상되는 세균수의 평균값은 아래와 같다.

결과 판정	양호	소독 재실시 고려
샘플링 장소		
바닥 (세균수 평균)	200	200 초과
벽면, 기구 (세균수 평균)	100	100 초과

8. 바이러스 제거 검증

1) 목적: 바이러스 제거 검증은 소독 검증의 일환으로 바이러스 발생 농장에서 세척 및 소독으로 인한 바이러스 제거가 확실히 이루어졌는지 확인하기 위함이다. 농장 내의 Critical Point 에서 얻어 낸 시료를 이용하며 소독이 제대로 이루어지지 않았을 경우 재소독을 하기 위한 기준이 된다.

2) 필요 물품

- 옷, 장화: 농장 출입 시 방역복 혹은 농장의 작업복을 착용
- 현장 진단장비 (POCKIT™ Micro DUO Nucleic Acid analyzer)
- iiPCR 시약 (POCKIT™ influenza A reagent)
- Tacomini™ Nucleic Acid extraction System
- Taco Preloaded DNA/RNA Extraction Set
- Vortexer
- 시료 보관 배지 (RNAlater/ VTM (Viral Transport Media)/MEM/PBS)
- 시료 채취용 cotton swab

3) 바이러스 제거 확인 검증 절차

- 1 단계: 각 시료를 보관할 Media 를 준비한다 (500 μ l/sample)을 2ml tube 에 소분하여 준비한다.
- 2 단계: 샘플링을 실시하기 전 농장의 계사는 완전하게 건조가 이루어진 상태이어야 한다. 소독이 완료된 상태이기 때문에 추가적인 오염의 방지를 위하여 농장의 방역 절차에 따라서 샤워실시, 옷, 신발 등을 교체한 후 출입하도록 한다.
- 3 단계: 샘플링 장소 선정 - 세척 및 소독이 잘 이루어 지지 않는 부분을 선정하여 진행하며 각각의 장소 별로 4 개의 cotton swab 으로 샘플링을 실시한다. 샘플링을 실시하는 장소는 아래와 같다.

	바닥	벽 및 입기구	기구 (급이기, 급수기 등)
샘플 수	4 개	4 개	4 개
세부 사항	바닥과 벽이 닿는 곳, 근처, 균열이 있는 곳, 육안상 보이는 곳 등 선정하여 샘플링	팬 덮개, 벽면 입기구 하단, 벽면 등을 샘플링	급이기 내부, 니플캡, 난상 내부 등을 샘플링

- 4 단계: Cotton swab 을 시료 보관 Media 에 넣고 20 초 vortexing 이 후 200 μ l 의 상층액을 사용하여 Taco Preloaded DNA/RNA Extraction Set 의 Lysis buffer well 에 넣는다

- 5 단계: Tacomini™ Nucleic Acid extraction System 을 통해 핵산 추출은 진행한다.
(30 분)
- 6 단계: 추출된 핵산을 POKKIT™ Micro DUO 및 POKKIT influenza A reagent 에 적용하여 iiPCR 을 수행한다.
- 7 단계: 45 분 뒤에 iiPCR 결과를 확인한다.

4) 결과 해석

- POKKIT™ Micro DUO 를 통한 결과 확인은 다음과 같다.

표. POKKIT™ Micro DUO iiPCR 실험결과

결과	설명
+	양성
-	음성
□	Tube 없음
?	미확인_재검사
!	시료 이상_재검사

- 각 구역에 대한 바이러스 제거 여부 확인 이후 결과가 미흡할 경우 추가 소독을 고려하여야 한다.
- 모든 시료가 음성으로 확인되었을 경우 제대로 소독이 되었다고 판단하며 양성이 나온 구역에 대하여 재소독을 실시한다.

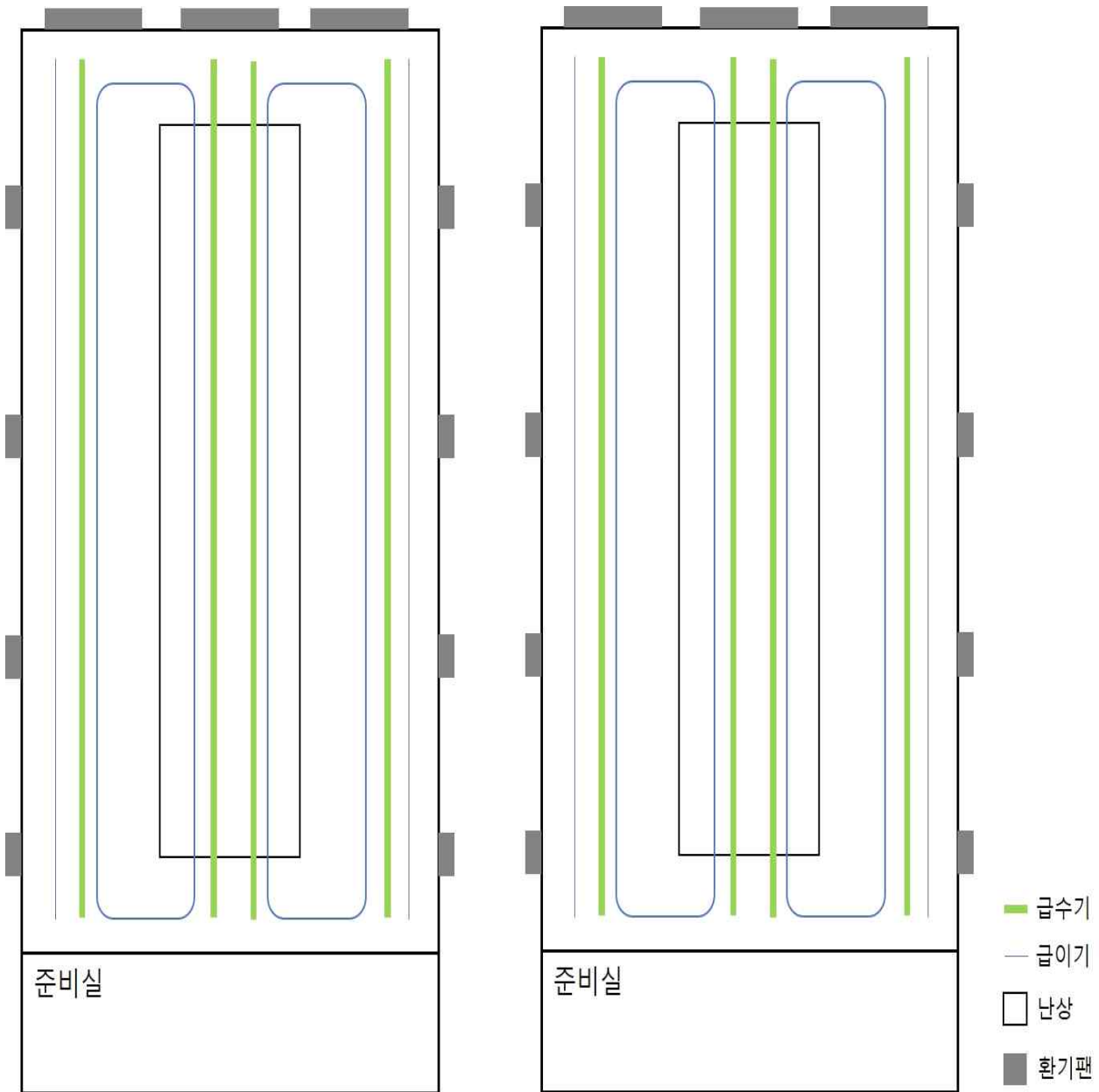
별표 1. 세척 상태 육안 점검 표

세척 상태 육안 점검 기록지

농장명:

점검일자:

점검자:



*점검 방법

- 계사 전체를 순찰하여 세척이 미흡한 곳(먼지, 계분, 깃털 등이 잔류)을 표시하고 세부사항을 메모한다.

제 3장 . 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

제 1절. 목표 달성도

1. 1차년도

구분	성과 목표	성과 지표	가중치	달성도
주관 과제 (건국대학교)	소독효과를 지닌 세척제를 이용한 인플루엔자 소독 효능 측정	인플루엔자 및 살모넬라 희석배수 파악	5%	100%
	바이러스 제거기술 확인기술 평가	임상시료를 이용한 바이러스 제거확인기술 평가	20%	100%
주관위탁과제 (주) 카브)	내동결성 소독제 개발 및 평가	소독제 7종에 대하여 소독제용 부동액의 혼합능 확인	5%	100%
		소독제 제형에 따른 소독 효능과 희석 배율 설정	15%	100%
		소독제 제형에 따른 동결 시험	10%	100%
협동과제 (체리부로)	국내 매뉴얼과 해외 매뉴얼의 비교 및 문제점 제기	해외 우수 농가의 재입식 매뉴얼 조사	15%	100%
		국내 농가의 재입식 매뉴얼 조사 및 문제점 제기	10%	100%
협동위탁과제 (한양대)	세척 여부 확인을 위한 색전이 센서 선정	OPD를 이용한 색전이 센서 물질 개발	10%	100%
		TMB를 이용한 색전이 센서 물질 개발	10%	100%

2. 2차년도

구분	개발 목표	성과 지표	가중치	달성도
주관 과제 (건국대학교)	바이러스 제거기술 및 제거 확인 기술 실험실 내 적용	실험실 내 사육환경에서 바이러스의 제거 기술 및 제거여부 확인 기술 검증 시험	10%	100%
	바이러스 제거 확인	AIV 진단 시약 제품	10%	100%

	기술 관련 시험	민감도 분석 및 동물용 의약품 등록 시험 진행		
주관위탁과제 (주) 카브)	내동결성 소독제의 효능 확인 및 제품화	내동결성 소독제의 등록을 위한 각종 세균 및 바이러스에 대한 효능 시험, 소독 희석 배수 확인	10	100%
		소독효과를 지닌 세척제와 내동결성 소독제 제품화	15	90%
	바이러스 제거 확인 기술	건국대학교에서 진행한 바이러스 제거확인 시험 결과를 토대로 동물용의약품으로 등록	10	100%
협동과제 (체리부로)	재입식 매뉴얼 작성, 바이러스 제거기술 및 재입식 매뉴얼 실제 농장 내 적용	농장 내 세척여부 확인 시험	5	100%
		농장 내 바이러스 제거 여부 확인 시험	10	100%
		AI 발생 농장에 남아 있는 바이러스 제거 방법 및 제거여부 확인 방법 매뉴얼화	15	100%
		농가내 재입식 매뉴얼 적용 및 피드백	5	90%
협동위탁과제 (한양대)	색전이 센서의 산업화	세척여부 확인을 위한 색전이 센서의 적용 농장 적용 가능 형태의 제품화 개발 추진	10%	90%

제 2 절. 성과 지표

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍 보		기 타 (타 연 구 활 용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		논 문 평 균 IF	학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SCI	비 SCI							
단위	건	건	건	건	백 만 원	백 만 원	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치		10		30	30								10		10	10				
최종목표		1		3	90							1		2		1	1			
1 차 년 도	목 표																			
	실 적												1							
2 차 년 도	목 표	1		3	90							1		2		1				
	실 적	1		4	90 .8 54	2								1		1				
종료 1차년도						3	100													
종료 2차년도																				
종료 3차년도																				
종료 4차년도																				
종료 5차년도																				
소 계						3														
목 표		1		3	90	3	100					1		2		1	1			
실 적		1		4	90 .8 54	2						0		2		1	1			

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

- 비 SCI 논문 성과의 경우 현재 SCI 논문게재를 목표로 논문을 작성하여서 “Evaluation of insulated isothermal PCR devices for the detection of avian influenza virus” 라는 제목으로 Journal of virological methods 학술지에 투고를 하였음.

제 4장. 연구결과의 활용 계획 등

제 1절 기술적 측면

- 본 과제를 통해 개발된 재입식 관련 매뉴얼을 통해 세척 및 소독과정에 대한 검증을 체계화 하여 높은 수준의 방역 프로토콜을 제시함.
- 본 연구과제를 통해 개발된 내동결성 소독제를 사용하여 AI바이러스가 빈발하는 한 겨울철에도 소독효능을 유지할 수 있는 소독제를 개발함.
- 본 연구과제를 통하여 현장적용 바이러스 제거기술 확인기술을 상업화 하였으며 해당 상용화 기술을 통하여 조류인플루엔자 뿐만이 아닌 다른 발생 질병에 대한 적용도 가능할 것으로 기대됨.
- 바이러스 제거 확인 기술은 POCKIT™ Micro DUO Nucleic Acid Analyzer를 사용한 질병 진단은 감염시료의 외부 반출 없이 현장에서 바로 바이러스 진단을 할 수 있다는 점에서 기술적으로 다른 진단법에 비해 장점을 가지고 있음.
- AI 바이러스에 효과적인 제거 방법 및 제거확인 기술을 적용한 매뉴얼을 농장 내 도입하여 AI 및 전파 예방 및 농가 내 재발생 방지에 기여할 수 있을 것으로 판단됨.
- 재입식 매뉴얼은 조류인플루엔자 발생 상황뿐만 아니라 일반적인 재입식 시에도 적용이 되면 상재 질병에 대한 예방적 차원의 조치로 적용이 가능할 것으로 판단됨

제 2절 경제적 산업적 측면

- 본 과제를 통하여 바이러스 제거 확인 기술인 POCKIT influenza A detection reagent와 POCKIT Central Nucleic Acid Analyzer를 산업화하여 실제 농장에 적용되어서 조류 인플루엔자 뿐만이 아닌 타 축산 질병에 대하여 피해를 줄일 수 있을 것으로 기대됨.
- 현재 POCKIT Central Nucleic Acid Analyzer를 판매 예정이며 마케팅 자료를 아래 첨부함

POCKIT Central



자동핵산추출, 시약 처리, PCR 시스템의 일체화 플랫폼!

POCKIT Central은 magnetic bead를 이용한 핵산 정제, 로봇화 된 시약처리, insulated isothermal PCR (iPCR) 기술을 통합한 비용 효율이 높은 Sample-in-answer-out 완전 자동화 핵산 검사 시스템입니다.

높은 가성비

- * 작업자의 조작 최소화
- * 더 나은 작업 효율관리
- * 손쉬운 검사 프로토콜

쉬운 조작법

- * 전문적인 기술 없이 조작 가능
- * 모든 기기에 적용 가능하게 미리 파악된 프로토콜
- * 사용자 친화적인 터치 스크린
- * 바로 사용 가능하게 loading된 시약
- * 즉시 확인 가능한 실험 결과

믿을 수 있는 기술

- * 효과가 증명한 iPCR 기술
- * 멸균을 위한 UV light 탑재
- * 정밀한 시약 처리
- * 인적 오류와 유지 비용의 최소화

제품 특성



Magnetic bead를 이용한 핵산 추출



두 가지 광학 채널을 이용한 iPCR 기술



정밀한 시약처리



한 번의 실행 수 조정 가능



바로 사용 가능하게 카트리지에 loading된 시약



멸균을 위한 UV-light 탑재



바코드 스캔을 이용한 조작 간소화



결과 인쇄 가능

결과 화면

실험 결과는 측정 이후 화면에 바로 나타나고 내부저장소에 결과가 저장되며, 결과는 USB로 전송이 가능합니다.

Reaction Overview				Operator: SCOTT		Report No: 20180119083	
Sample ID	Sequence No.	Reaction	Target	Unit	Result	Pass	Fail
A	TEST 1	GENE1	TRICHOGLAS	TF	+	+	-
A	TEST 2	GENE2	TRICHOGLAS	TF	-	-	+
C	TEST 3	GENE3	TRICHOGLAS	TF	+	+	-
H	TEST 4	GENE4	CONNAERTIAS	CONV	+	+	-
S	TEST 5	GENE5	CONNAERTIAS	CONV	-	-	+
P	TEST 6	GENE6	CONNAERTIAS	CONV	-	-	+
C	TEST 7	GENE7	CONNAERTIAS	CONV	-	-	+
M	TEST 8	GENE8	CONNAERTIAS	CONV	-	-	+

UV Treatment is Completed Save to USB End

사양

Dimensions (W x D x H)	31 x 48 x 43 cm
Weight	Approx. 21 kg
Throughput	1 - 8 samples
Reaction Time	85 minutes
Detection Wavelength	520 nm & 550 nm
Monitor	LCD touch control panel
Data Storage	8 Gb of internal storage
Power Supply	100 - 120V/200 - 240V AC, 50/60 Hz, 2A
USB Port	3 type-A ports (1 front, 2 rear)

- 내동결성 소독제는 질병에 취약한 한 겨울에 적용이 가능하여서 질병으로 인한 산업적 손실을 줄일 수 있음 것으로 생각됨.
- 질병 통제에 따른 축산물의 품질향상과 축산업의 국제 무역 경쟁력 강화 등의 생산성 향상이 기대됨.

붙임. 참고문헌

2014-2016 고병원성 조류인플루엔자 역학조사분석보고서, 농림축산식품부

2016-2017 고병원성 조류인플루엔자 역학조사분석보고서, 농림축산식품부

2017-2018 고병원성 조류인플루엔자 역학조사분석보고서, 농림축산식품부

고병원성 조류인플루엔자 백서-농림수산식품부

조류인플루엔자 방역실시요령, 농림축산검역본부

AI 방역체계 개선방안 후속대책연구, 농림축산식품부

Darrell W. Trampel et al., Odor and Nutrient Management., 2006.

소독제 효력시험지침 (농림축산검역본부 고시 제2018-16호)

HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA RESPONSE PLAN: THE RED BOOK
STANDARD OPERATING PROCEDURES : 15. CLEANING AND DISINFECTION
- USDA

Australian Veterinary Emergency Plan : Disease Strategy Avian Influenza-
AUSVETPLAN

Notifiable Avian Disease Control Strategy for Great Britain.- 영국 DEFRA(Department
of Environment Food and Rural Affairs,

DCC Generic Notifiable Animal Disease Contingency Plan : Annexe A, Avian
Influenza(HPAI)

FAO ANIMAL PRODUCTION AND HEALTH

조류인플루엔자 긴급행동지침-농림축산식품부

Ambagala, A., M. Fisher, M. Goolia, C. Nfon, T. Furukawa-Stoffer, R. Ortega Polo and
O. Lung (2017). "Field-Deployable Reverse Transcription-Insulated Isothermal PCR
(RT-iiPCR) Assay for Rapid and Sensitive Detection of Foot-and-Mouth Disease
Virus." TransboundEmergDis**64**(5): 1610-1623.

Ambagala, A., S. Pahari, M. Fisher, P. A. Lee, J. Pasick, E. N. Ostlund, D. J. Johnson
and O. Lung (2017). "A Rapid Field-Deployable Reverse Transcription-Insulated
Isothermal Polymerase Chain Reaction Assay for Sensitive and Specific Detection of
Bluetongue Virus." TransboundEmergDis**64**(2): 476-486.

Armbruster, D. A. and T. Pry (2008). "Limit of blank, limit of detection and limit of
quantitation." ClinBiochemRev**29 Suppl 1**: S49-52.

Balasuriya, U. B., P. Y. Lee, A. Tiwari, A. Skillman, B. Nam, T. M. Chambers, Y. L. Tsai, L. J. Ma, P. C. Yang, H. F. Chang and H. T. Wang (2014). "Rapid detection of equine influenza virus H3N8 subtype by insulated isothermal RT-PCR (iiRT-PCR) assay using the POCKIT Nucleic Acid Analyzer." *JVirolMethods***207**: 66-72.

Carossino, M., Y. Li, P. A. Lee, C. F. Tsai, P. H. Chou, D. Williams, A. Skillman, R. Frank Cook, G. Brown, H. G. Chang, H. T. Wang and U. B. R. Balasuriya (2017). "Evaluation of a field-deployable reverse transcription-insulated isothermal PCR for rapid and sensitive on-site detection of Zika virus." *BMCInfectDis***17**(1): 778.

E. Smith, G. Dent, *Modern Raman Spectroscopy: A Practical Approach*, West Sussex, England: John Wiley & Sons 2013.

H. J. Bowley, D. L. Gerrard, J. D. Loudon, G. Turrell, *Practical Raman Spectroscopy*, Berlin, Heidelberg: Springer Science & Business Media 2012.

M. Fleischmann, P. J. Hendra, A. J. McQuillan, *Chem. Phys. Lett.* 1974, 26, 163.

D. L. Jeanmaire, R. P. Van Duyne, *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* 1977, 84, 1.

C. H. Camp Jr., M. T. Cicerone, *Nat. Photonics* 2015, 9, 295.

S. Jimenez-Sandoval, *Microelectron. J.* 2000, 31, 419.

P. L. Stiles, J. A. Dieringer, N. C. Shah, R. P. Van Duyne, *Annu. Rev. Anal. Chem.* 2008, 1, 601.

B. Sharma, R. R. Frontiera, A.-I. Henry, E. Ringe, R. P. VanDuyne, *Mater. Today* 2012, 15, 16.

A. Otto, I. Mrozek, H. Grabhorn, W. Akemann, *J. Phys.: Condens. Matter* 1992, 4, 1143.

C. L. Haynes, A. D. McFarland, R. P. V. Duyne, *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Anal. Chem.* 2005, 77, 338A.

A. R. Tao, S. Habas, P. Yang, *Small* 2008, 4, 310.

W. Xie, C. Herrmann, K. Klmppe, M. Haase, S. Schlöcker, *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 19302.

L. Jensen, C. M. Aikens, G. C. Schatz, *Chem. Soc. Rev.* 2008, 37, 1061.