

<原 著>

牛疫乾燥豫防藥에 關한 研究

(家畜衛生研究所 細菌科長・晉州農科大學 助教授)

文 載 鳳・馬 點 述

緒 言

牛疫의 發生이 있거나 發生할 우려가 많은 나라 (主로 Asia Africa)에서는 모두 生毒 Vaccine을 牛疫豫防의 目的으로 應用하고 있다. 牛疫生毒 Vaccine中에서 現在 널리 應用되고 있는것 中에서 代表的인 것을 列舉 하면 다음과 같다.

1927年 Edwards에 依해서 作出된 山羊化 牛疫毒 Vaccine (Caprinized Rinderpest: C vaccine) 1938年 中村에 依해서 考案된 家兔化 牛疫毒 Vaccine (Lapinized Rinderpest Vaccine L Vaccine) 1946年 Shope가 成功한 鷄胎化 牛疫毒 Vaccine (Avianized Rinderpest Vaccine :A Vaccine) 1952年 中村에 依해서 改良된 家兔化 鷄胎化 牛疫 Vaccine Lapinized Avianized Rinderpest Vaccine: L.A. Vaccine등을 말할 수 있다.

이들 各種의 Vaccine은 그 病原性이 여러가지 程度로 減弱된 變異 Virus임으로 實際應用에 있어서는 各品種牛의 牛疫病毒에 對한 感受性에 따라 適合한 Vaccine을 選擇하여 使用하게 되면 危險이 없이 豫防의 目的을 達成할 수 있다.

또한 從來에 使用했던 免疫血清과 牛疫 病毒과 의 共同接種法 死毒(不治化) Vaccine의 注射法에 比해서 大端히 거리가 먼 經濟的인 利點이 있으며 免疫期間에 있어서도 長期間 持續됨으로 有利한 點이 많은 Vaccine이다.

우리 나라에 있어서의 牛疫豫防은 여러 차례의 變遷이 있었다. 卽 1917年에 蠕奇에 依해서 發明된 死毒 Vaccine은 1920年 부터 1930年代까지 牛疫豫防에 使用되었고 1940年代부터 1950年代 初까지

는 中村에 依해서 研究된 L.Virus와 免疫血清法과 의 共同注射法에 依存하였다. 1953년부터 著者들에 依하여 L.A. Vaccine單味 (L. Vaccine과 免疫血清法과 의 共同注射法을 使用하지 않고 L.A. Vaccine 만으로 接種하는 方法) 接種으로써 豫防法을 改良하여 1960년까지 繼續 이 方法으로 實施하여왔다.

이와같이 豫防藥을 改良하는 主要目的은 비단 牛疫豫防液에 限한것은 아니지만 첫째 質의 優秀性 (接種反應 없이 少量으로 長期間 強力한 免疫이 賦與된다는것) 둘째 經濟的으로 廉價 셋째 保存 및 取扱이 容易한것 등이 그 目的의 目標가 되는 것이다.

上記한 L.A. Vaccine에 있어서도 豫防藥改良의 目標인 여러가지 條件에 아직 未達된 點이 많으므로 그 一部를 補充하기 爲하여 本試驗이 實施되었다.

本試驗의 主要한 改良의 目標은

(1) 經濟的인 面에 있어서 豫防藥 材料의 轉換과

(2) 凍結乾燥操作을 통한 製品化에 있었다.

豫防藥 材料의 轉換의 主要한 目標은 1960년까지 應用된 L.A. Vaccine의 材料는 家兔의 淋巴腺이 使用되었다. 이것을 發育鷄胎兒로 轉換시켜 價格에 差異를 올리려고 하는데 있었다. 아울러 効力의 長期保持와 取扱의 簡便을 圖謀하기 爲해서 凍結乾燥에 附屬된 諸條件을 檢討하여 製品化에 標準을 期하고져 하였다.

本試驗은 1960年度에 實施完了 하였고 그 成績이 實地應用에 可能함으로 1961年度 부터는 L.A. Vaccine 製造에는 家兔淋巴腺 材料가 發育鷄胎兒로 轉換되어 使用되었다.

試驗方法 및 材料

가. 材 料:

- Viruses (1) L.A. 1857.
 (2) L.A. 323 }
 (3) L.A. 400 } Vaccine用 毒株
 (4) L.A. 226 }

- (5) 毒~家兔化牛疫毒 (L.D. $50^{10^{-9}}$)
 (6) 牛疫原毒~(L.D. $50^{10^{-8}}$) (5와 6은 攻격用 毒株)

※ L.A.: Lapinized Avianized Rinderpest Virus

試驗動物: 家兔 犢牛 鷄胎兒

나. 方 法

- (1) Vaccine Strain의 選擇
 (2) Virus Titer를 올리기 爲한 鷄胎兒 繼代 試驗
 (3) 感染鷄胎兒에 있어서의 病毒의 分布狀態
 (4) 乾燥 Vaccine Medium의 選擇
 (5) 材料를 달리한 Vaccine의 乾燥前과 後의 力價比較
 (6) Vaccine의 効力試驗
 (7) 溶解한 Vaccine의 保存性
 (8) 乾燥 Vaccine의 保存試驗
 (9) 宿主動物(犢疫牛)에서의 免疫 持續試驗

試驗 成績

表 1. L.A. Virus strain의 家兔에 對한 力價比較 (感染家兔淋巴腺)

Titer Strain	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	Remarks
	LA. 185	+	+	+	+	
LA. 323	+	+	+	+	+	
LA. 226	+	+	+	+	⊕	Vaccine Straine 으로서 선택함
LA. 400	+	+	+	+	+	

Vaccine을 生産하기 爲한 가장 좋은 條件에 있는 Virus Straine을 選定하기 爲하여 保管中인 LA. 4株를 比較했다.

이들은 家兔에서 發育卵으로 modified된 Virus로써 宿主動物 (犢牛)에 對해서는 全然 Vir-

ulent가 없고 家兔에 對해서도 家兔를 致死시킬 毒力은 없고 感染에서 끝이게 된다. 家兔에서 나타나는 病勢로써 一定한 潛伏期를 지나 固定된 熱型으로써 發熱이 있고 腸間膜淋巴腺廻盲辨 盲腸 12指腸 粘膜에 灰白色 粟粒大의 懷死瀰胞가 發生하는 것이 家兔에 있어서 L.A. Virus의 特徵이 되어있다. 從來의 家兔材料로써 製造된 Vaccine의 毒株는 L.A. 226을 使用하고 있으나 鷄胎兒를 原材料로하는 本試驗에 있어서는 豫備試驗도 없이 L.A. 226 毒株로 決定하는 것이 無謀한 것 같아서 保存中인 L.A. Strain 4毒株를 動員하여 各各의 鷄胎兒에 對한 性質을 檢討하여 그中 가장優秀한 毒株를 選定코져 한 것인바 亦是 L.A. 226이 鷄胎兒에 對한 感染이 強하고 家兔에 對해서도 發熱 및 病變이 顯著하였다.

表 II ~ L.A. Virus 感染鷄胎兒材料의 繼代 試驗

繼代動物	繼代數	材料	力價變動	備 考
發 育 卵	1 代	胎兒	10 ⁻³	初代에서는 10 ⁻³ 以上 titer를 나타 내지 못하였으나 3代에서 부터는 10 ⁻⁴ 를 나타내고 連續繼代 하더라도 變動을 볼수 없었다
	3 代	"	10 ⁻³ -10 ⁻⁴	
	5 代	"	10 ⁻³ -10 ⁻⁴	
	10 代	"	10 ⁻³ -10 ⁻⁴	
	11 代	"	10 ⁻³ -10 ⁻⁴	
	13 代	"	10 ⁻³ -10 ⁻⁴	
家 兔	14 代	"	10 ⁻³ -10 ⁻⁴	鷄胎兒에서 繼代 해온 것을 다시 家兔에 連續繼代 함
	15 代	"	10 ⁻³ -10 ⁻⁴	
	19 代	"	10 ⁻⁴	

選定된 L.A. 226 毒株의 Titer로 높이기 爲해서 鷄胎兒에서 連續的으로 繼代를 하여 가면서 家兔에 感染시켜 titer를 알기 爲해서 毒測하는 한편 14代 부터는 다시 家兔에 還元시켜 家兔에 連續繼代를 6代했다. 鷄胎兒繼代 1~2代에서는 胎兒材料에서 Rabbit L.D 50가 10⁻³이었으나 3代서부터 13代까지 10⁻⁴로 上昇했고 다음으로 家兔體를 5代 連續繼代해도 10⁻⁴에서 動요가 없었다.

表 III 感染鷄胎兒에 있어서의 病毒의 分布 狀態

Tissue	Virus Titer in chick embryo
脾	$10^{-5}-10^{-6}$
肝 腎, 消化管(腸胃) 卵黃囊	$10^{-4}-10^{-6}$
肺 血	$10^{-3}-10^{-5}$
腦, 漿尿膜	$10^{-3}-10^{-4}$
胎兒外, 體液, 卵黃	10^{-3}
胎兒(頭, 肢, 翼, 除去)	10^{-4}

이러 알려진 成績에 依하면 Intravenously로 接種한 感染鷄胎兒에서의 Virus의 分布狀態는 spleen에서 가장 높고 胎兒외의 體液에서 가장 낮다.

Virus의 含量은 spleen에서 가장 많으나 量의 으로 너무 少量이기 때문에 大量 生産의 境遇를 生覺해서 胎兒가 多少 Titer는 낮지마는 量의 으로 많은 것을 擇하기 爲해서 Vaccine材料로써 決定했다. 그리하여 胎兒를 使用할 目的으로 反覆 그 力價를 檢討했으나 10^{-4} 이었고 이것은 充分히 Vaccine을 製劑할수 있는 材料로써 價値가 있음을 認定하고 感染胎兒를 使用하게 된다.

表 IV 乾燥Vaccine의 Medium의 比較

Medium	Vaccine Titer	Remark
Glucose(1%)	$10^{-3}-10^{-4}$	
skin Milk	10^{-4}	Vaccine Medium 으로써 선택
Serum (Horse)	$10^{-3}-10^{-4}$	

Rinderpest Virus 뿐만 아니라 凍結乾燥로써 Virus를 長期間 生存狀態로 保存하기 爲하여 保護物質으로써 skin milk serum Glucose 등이 많이 使用되고 있다. 이 중 어느 것이 가장 良好한 것인가를 알기 爲해서 Glucose는 1% serum과 skin milk는 原液으로 해서 感染胎兒의 5倍乳劑液을 各各 만들어 10cc 瓶에 1cc씩 分轄하고 炭酸瓦斯로 急作히 凍結시켜 Freeze drying machine (小型 Crychen-Type)에 乾燥시켜서 家兎에서 Virus Titer를 보았다. 三者가 大同小異 했으나 其中 Skin milk가 Virus Titer

10^{-4} 로써 가장 좋다는 것이 알려졌다.

Glucose의 Solution은 너무 淸明한 純粹液體로써 胎兒材料만의 乾燥에 그치지 않고 乾燥된 物質의 海綿樣의 粗한 固型狀態는 保存함으로 일어나는 變異性의 容易한 點과 毒證으로 나타나는 Virus Titer에 亦是 Skin milk에 比較해서 差異가 若干 있었다. Serum 亦是 堅固性이 Skin milk에 比해서 弱함으로 瓶內에서 乾燥된 物質이 取扱時 分散되기 쉬운 것은 長期保存으로 말미암아 Virus에 變化를 이끄는 可能性이 많은 것이다. 뿐만아니라 Skin milk보다 乾燥 Vaccine의 毒證에서 나타나는 Virus Titer 등이 多少 낮은 感이 있었다.

表 V 材料를 달리한 Vaccine의 乾燥前과 後의 力價比較

條件 材料	Rabbit Origin Vaccine	Chick embryo Origin Vaccine
乾燥前	10^{-4}	10^{-4}
乾燥後	$10^{-3}-10^{-4}$	10^{-4}

Skin milk를 Vaccine medium으로 해서 chick embryo와 家兎臟器(淋巴腺) Vaccine을 만들고 乾燥前과 乾燥後에 있어서 Vaccine Titer에 變動有無를 알기 爲해서 家兎에서 各各 毒證했다. 乾燥前에 있어서는 Rabbit origin과 chick embryo Origin Vaccine이 差異없이 LD 50가 10^{-4} 이 었으나 乾燥後에 있어서는 Chick embryo Vaccine은 變動이 없었는데 Rabbit Origin은 若干의 動요가 생겨서 $10^{-3}-10^{-4}$ 로 나타났다. 勿論 反覆試驗하고 乾燥時의 條件(眞空度, 溫度, 時間)을 가장 좋게 할려고 했다.

表 VI Vaccine의 効力試驗

表 VI의 I Test of Vaccine

Test	Results	Rmark
safety	+	
sterility	+	
moisture	-	
Vaccine	+	
Egg Infective Unite	10^{-4}	

表 VII의 2 Potency Test

Vaccine dilution	Challenge					Control
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	
Infection of challenged Animal (Rabbit)	-	-	-	-	+	+

家兔에서의防禦能은 Vaccine dilution 10⁻⁴까지 있었고 10⁻⁵에서는 感染했다. 여기 사용한 Challenge Virus는 家兔系 III系 強毒으로서 本來의 LD. 50가 10⁻⁷ 以上이고 10,000 M.L.D. 1.0ml를 intravenously로 注射했다.

表 VIII 溶解한 Vaccine의 保存性

時間	溫度			
	3 時間	6 時間	9 時間	12 時間
22°C-26°C	+	+	+	±

乾燥 Vaccine을 食鹽水에 使用量(1:100)으로 溶解하여 22°C~26°C의 一定한 溫度를 維持시키면서 3時間 間隔으로 12時까지 効力の 持續을 보았다. 溶解後 9時間까지는 安定하였고 12時間에서는 不安定함을 알수 있었다. 勿論 같은 溫度的 條件이라도 光線 其他의 影響을 받는 境遇도 生覺할 수 있으나 여기서는 Water Bath 內에서 直射光線의 影響을 避했다.

表 IX 乾燥 Vaccine의 保存試驗

溫度	22°C~26°C				4°C~6°C				20°C	
	日	日	日	日	介月	介月	介月	介月	介月	介月
期間	10	20	40	60	2	4	6	8	12	24
効力	⊕	⊕	⊕	⊖	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕

Virus의 種類와 保存條件이 달라짐으로서 長期間 保存할수 있는것과 그렇지 못한 것이있다. 特히 冷凍乾燥한 生物學製劑가 比較的 長時間 保存이 可能하고 高溫보다는 低溫이 좋다는 事實은 實地應用에 매우 重要하다. 그러므로 우리들이 許容할수있는 自然條件에 가까운 溫度를 考慮해서 22°C~26°C에서 또는 比較的 冷蔵庫(普通 및 超冷蔵庫)에 近以한 溫度的 條件을 具備한다는 目的으로 4°C~6°C와 -20°C에서 乾燥된 Vaccine의 保存能을 보았다.

22°C~26°C에서는 20日까지는 安全하고 40日에

서는 不安全 했다. 4°C~6°C에서는 8個月까지 安定하고 -20°C에서는 24個月까지 安全하였다.

表 X 免疫持續試驗 (犢牛)

免疫持續期間	直 時	6 個月	12 個月
攻擊毒에 對한 防禦力	+	+	+
備考	Vaccination後 3週에 Challenge	Challenge	Challenge

Vaccine의 効力檢定과 同時에, 免疫의 持續을 보기 爲하여 宿主動物인 犢牛에서 Vaccination (1:100 2cc) 後 3週부터 12個月에서 Challenge 하고 Vaccine에 對한 安定性和 効力を 檢定했다 따라서 免疫의 成立을 確認함과 同時에 Vaccination으로 因한 副作用은 全然없을 뿐만 아니라 3週後 부터는 完全히 免疫이 成立되어 牛痘原毒 (L.D. 50¹⁰⁻⁸)1,000,000 M.L.D. 1.0ml에 對해서 完全히 防禦할 수 있었다.

勿論 對照는 定型的인 症狀을 나타내고 7日後에는 致死期에 이르렀다.

考 察

生毒 Vaccine의 應用에 있어서 가장 큰 問題가 되는것은 感染의 強度이다. 感染의 強度는 主로 Vaccine으로 使用되는 變異 Virus의 病原性和 接種을 받게 되는 動物(各品種牛)의 低抗性的 程度에 따라 決定되는 것이다.

緒言에서도 言及한바 있지만 우리나라에서 應用되고 있는 L.A. virus는 그 病原性에 있어서 韓國牛에 對해서 適合한 感染의 強度를 가지고 있다는 것은 著者들에 依해서 이미 여러가지 實驗으로써 確認되고 있으며 實地 牛痘豫防에 約10年동안 20萬頭 以上の 畜牛에 應用되어 不快한 接種反應이 없이 所期의 目的을 達成하고 있다는 것은 周知된 事實이다. 따라서 本試驗은 L.A. Virus의 本質的인 問題가 아니고 L.A. Vaccine 生産에 있어서 經濟的인 見地에서 또한 保存의 安全과 取扱의 簡便을 圖謀코져 凍結乾燥에 髓行되는 條件을 檢討하는 範圍內의 試驗이었다. 試驗成績이 敎示하는 바와 같이 Vaccine 原料로써 發育鵝胎兒가 從前에 使用했던 家兔材料에 比해서 조금도 遜色이 없는 原料로써 轉換시킬수 있다는 것을 알게되어 生産價格의 低下를 目標로

한 本試驗의 目的의 一部를 達成할 수 있었다.

또한 Vaccine의 質의 向上과 保存의 安全과 取扱의 簡便化를 指向한바 Vaccine 毒株의 選定과 乾燥 Vaccine의 medium의 比較 Vaccine의 多角度로 行한 効力試驗 保存性 免疫試驗에서 어느 程度滿足함을 認定할 수 있었다.

따라서 著者들은 牛疫豫防液 生産에 있어서 從來의 製品보다 質의面에서나 經濟의面에 있어서나 보다 낫은 그리고 廉價로서 生産할 수 있으리라는 것을 本試驗을 通해서 알게 되었다.

結 論

1. L. A. Vaccine 製造用 Strain 은 L. A. 226 株가 가장 優秀하였다.
2. 發育鷄胎兒 連續繼代試驗에서 L.A. 226 株는 10^{-4} (鷄胎兒力價)에서 動搖없이 잘 繼代되었다.
3. 發育鷄胎兒에 있어서 L.A 226의 分布狀態는 脾 $10^{-5} \sim 10^{-6}$, 肝, 腦, 消化管(腸胃) 卵黃囊 $10^{-4} \sim 10^{-6}$, 肺, 血液 $10^{-3} \sim 10^{-5}$, 腦, 壞尿管, $10^{-3} \sim 10^{-4}$, 胎兒外體液卵黃 10^{-3} , 胎兒 10^{-4} 였다.
4. 乾燥 Vaccine의 medium은 Skine Milk가 病毒保存에 가장 良好하였다.
5. Vaccine의 乾燥前과 後의 力價比較는 發育鷄胎兒前 10^{-4} , 後, 10^{-4} 家兔淋巴腺 前 10^{-4} 後, $10^{-3} \sim 10^{-4}$ 였으며 發育鷄胎兒 材料가 良好하였다.
6. Vaccine의 家兔에 있어서 防禦能力은 10^{-4} 까지 可能하였고 10^{-5} 는 能力이 없었다.
7. 溶解한 Vaccine의 保存性은 $22^{\circ}C \sim 26^{\circ}C$ 에서 9時間까지 安全하고 12時間는 不安全 하였다.
8. 乾燥 Vaccine의 保存은 $22^{\circ}C \sim 26^{\circ}C$ 에서 20日까지 安全하였고 40日은 不安全하며 60日은 無効였다.
 $4^{\circ}C \sim 6^{\circ}C$ 에서는 8個月까지 安全하였고 $-20^{\circ}C$ 에서는 24個月까지 安全하였다.
9. 犢牛에 對한 免疫持續試驗에서 12個月까지 完全히 免疫이 持續되었다.

參 考 文 獻

1. Nakamura, J., and Miyamoto. T Avianization of lapinized rinderpest virus. Am, J.Vet. Res., 1953, 14 307-317.
2. Nakamura, J., Sato, R., and Miyamoto, T. Infection and passage with rinderpest virus in chicken embryos through intravenous o route Jap. J. Vet. sci., 1947, 9, 110.
3. Shope, R. E. Griffith, J., J and Jenkins, D.L. Rinderpest. The cultivation of rinderpest virus in the developing hen's egg Am. J. Vet. Res., 1946, 7, 135-141.
4. Hale, M. W., and walker, R.V.L. Rinderpest. The production of rinderpest vaccine from and attenuated strain of virus. Am. J. Vet. Res., 1946, 7. 199-211.
5. Nakamura, J., and Kishi. S. On the features of multilication of lapinized-avianized rinderpest virus in embryonating chicken egg. Bull. off. Intern. Epiz., 1954, 42, 692-709,
6. Nakamura, J., wagatuma, 5., and Fukusho, K. No On the experimental infection with rinderpest virus in the rabbit I. Some fundamental experiments. Jap. Soc, Vet Sci., 1938, 17, 185-204.
7. Nakamura, Ja., and kurada. S. Rinderpest; On the virulence of the attenuated rabbit virus for cattle. Jap. J. vet. Sci., 1942, 4, 75-98.
8. Mun, Kim and Lee. Studies on the preservation of viruses. N. I. Vet. Res. Korea., 1957, 15. 27-42.
9. Alton. G. G.

Experiences in the use of lapinized rinderpest vaccine in Hongkong, 1949. Information to F, A. O of the United Nations, Eec. 27. 1949.

10. Robert C. Reisinger, Jae Bong Mun, Nam Shim Lee.
Use of Rabbit-passaged Strains of the Nakamura La Rinderpest virus for Immunizing Korean Cattle
American. J. Vet. Res. 1954. 15. 554-560.

11. Jae Bang Mun, Nam Shin Lee, Jung Kyu Kim.

Behavior of lapinized and Lapinized (1 a) and Lapinized (L) Strains of Rinderpest Virus under going continuous passages in various Hosts.

Nat. Inst. Vet. Res. 1957, 5, 7-14.

12. 中村稔治. 牛疫生毒豫防注射法. 細菌學新領域

13. 越智勇一. 家畜傳染病.

獸醫藥品案內

家畜治療防疫에 가장 緊要한 약품을 販賣中이오니 貴道各市郡에 斡旋하여 주시옵기 仰望하나이다.

<<販賣藥品>>

◇「패노다이아핀」—(各種驅虫약으로 니코틴을 加味)

成 鷄 200 羽	} 200g 1包入 價格 120원
中 雛 400 "	
初生雛 600 "	

◇「셀 파 메 라 징」—(광범위한 동물질환 치료제)

닭의 코크시지움, 전염성감기, 白痢, 지브스, 폐염, 기관지염에 特効藥(加溶性 注射液으로도 使用할수있음)(英製)

價 格 { 50 g入— 150원
1LB入— 1200원

◇「반술」—(가축소독약, 강력멸균력이 있음)
畜舍, 牛市場소독용으로 500-200배
가축전용약품으로 가장 강력

價 格 { 5카통入—3000원
1카통入— 650원
1LB入— 70원

◇「칼슘」—(가축 영양소)

牛, 馬, 豚, 鷄의 滑軟症, 난산, 영양축진에 效果 有함.

價 格 10LB入— 90원

◇「아비술」—기관지, 지프테리, 급성감기등에 음료수 혼합하여 투여함.

價 格 12원

◇「檢印用色素」—價 格 350g—120원

1. 飼料切斷機(엔시레지용) 20,000원
2. 옥수수알맹이 타는 기계 700원
3. 胎兒摘出機 3,500원
4. 屠畜檢印세트 2,500원

5. 牛, 豚人工授精器 { 豚 4,500원
牛 6,500원
6. 鐵製注射器 500원
7. { 豚去세기원 1,000원
無血去세기 7,000원

서울特別市東大門區龍頭洞708(城東驛前)

協信畜産公司 代表 朴 榮 出

電話 ⑤ 3083