

犬 Distemper Vaccine

韓 台 愚

家畜衛生研究所

緒 論

犬 distemper vaccine을 우리 나라에서 公式的으로 使用한지는 벌써 20年 가까이 되지만 이 vaccine은 移行 抗體免疫의 影響을 받기 때문에 接種適期의 問題, 其他 등으로 100% 豫防效果를 올린다고는 볼 수 없으나 그러나 지금 使用되고 있는 vaccine은 그 效果가 大端히 좋은 것으로서 옛부터 愛犬家를 本病의 恐怖에 몰아 넣던 時代와는 달리 vaccine만 適期에 놓으면 于先 本病

에 對해서는 神經을 쓸 必要가 없이 發病을 免할 수 있는 程度에까지 온 現在 이 vaccine의 利用度는 해를 거듭할수록 그 數는 漸次增加하는 추세에 있으며 따라서 本病發生率도 그 數가 減少해 가고 있다. 그러나 一般的으로 本病에 대한 認識이나 이 vaccine에 關한 知識이 未吸하기 때문에 本病을 豫防하는데 또 理解하는데 注意를 환기시켜 더욱 더 防疫에 이바지할 수 있도록 하기 爲하여 이 vaccine의 發展史 및 本病의 性質과 國家檢定에 對한 것을 略述하여 本病에 對한 防疫과 vaccine에 對한 性格을 理解하는데 參考가 되면 多幸

제 1 표 디스텔파 백신 연도별 생산량 (한국)

연도별	총 Lot	총생산량	제 품 명							
			Lot	디스텔파 (단미)	Lot	D.H. (혼합)	Lot	D.H.L.	Lot	밍크 디스텔파
1962	2	784	2	784	—	—	—	—	—	—
1963	2	984	2	984	—	—	—	—	—	—
1964	10	3,278	10	3,278	—	—	—	—	—	—
1965	4	2,299	4	2,299	—	—	—	—	—	—
1966	4	4,093	4	4,093	—	—	—	—	—	—
1967	6	8,225	3	4,837	3	3,388	—	—	—	—
1968	7	10,261	4	4,462	3	5,799	—	—	—	—
1969	8	17,856	5	9,062	3	8,794	—	—	—	—
1970	8	18,796	3	7,130	5	11,666	—	—	—	—
1971	12	36,270	3	9,650	9	26,620	—	—	—	—
1972	12	39,134	6	21,796	6	17,338	—	—	—	—
1973	15	53,080	4	18,425	11	34,655	—	—	—	—
1974	19	85,622	6	30,809	13	54,813	—	—	—	—
1975	18	79,925	8	33,361	10	46,567	—	—	—	—
1976	16	73,552	6	28,733	10	44,819	—	—	—	—
1977	18	83,109	3	13,051	15	70,058	—	—	—	—
1978	36	104,094	3	7,200	30	88,936	3	7,958	—	—
1979	43	194,465	2	7,612	34	155,537	6	26,316	1	5,000
계	240	815,830	78	207,566	152	568,990	9	34,274	1	5,000

제 2 표 1979년도 회사별 디스토프와 백신 생산내역

회 사 명	제품명	본질	용량	유효기간	합계량	비 고
Philips Roxane	D. H. L.	T. C.	2ml	1년	4,986	덕수약품(미제)
Dellen Lab	"	"	"	6개월	5,386	삼영상사(")
Fort, Dodge Lab	"	"	"	1년 10개월	2,986	고려동물(")
Norden Lab	"	"	"	6개월	2,986	위림상사(")
Philips Roxane	"	"	"	1년 10개월	4,986	테이스파크(")
Fort Dodge Lab	"	"	"	1년 3개월	4,986	고려동물(")
계 6 Lot					26,316	
녹십자수의약품	D. H.	계태아	2ml	10개월	3,074	
"	"	"	"	"	3,894	
"	"	"	"	"	3,464	
"	"	"	"	"	3,514	
"	"	"	"	"	3,771	
"	"	"	"	"	3,605	
"	"	"	"	"	3,660	
"	"	"	"	"	3,743	
"	"	"	"	"	3,662	
계 8 Lot	디스토프	"	5ml	"	28,725	
계 1 Lot	D. H. 디스토프				3,662	3
대성미생물	D. H.	계태아	2ml	10개월	5,083	
"	"	"	"	"	5,091	
"	"	"	"	"	4,794	
"	"	"	"	"	5,020	
"	"	"	"	"	3,993	
"	"	"	"	"	5,210	
"	"	"	"	"	6,987	
"	"	"	"	"	6,769	
"	"	"	"	"	5,265	
"	"	"	"	"	4,799	
계 10 Lot					53,011	
중앙전염병연구소	D. H.	계태아	2ml	10개월	6,245	
"	"	"	"	"	6,744	
"	"	"	"	"	6,462	
"	"	"	"	"	7,275	
"	"	"	"	"	5,945	
"	"	"	"	"	7,264	
"	"	"	"	"	6,140	
"	"	"	"	"	3,270	
계 18 Lot					49,345	
한국미생물연구소	D. H.	계태아	2ml	10개월	5,438	
"	"	"	"	"	5,262	
"	"	"	"	"	4,685	
"	"	"	"	"	4,809	
"	"	"	"	"	4,179	
"	"	"	"	"	3,950	
계 5 Lot	디스토프	"	5ml	"	24,373	
계 1 Lot	D. H. 디스토프				3,950	
총계 37 Lot	D. H.				181,770	
총계 2 Lot	디스토프				7,612	

이라 생각된다.

우리 나라에서 처음으로 생산된 것은 1962年度の 首都 微生物研究所와 極東獸醫藥品株式會社에서 鷄胎化生毒 vaccine을 製造한 것이 國產品으로서 처음이며 그 當時는 全部가 distemper 單味 vaccine이었다. 1966年度까지는 單味 vaccine만 生産하였고 1967年度부터 distemper 混合 vaccine을 生産 市販하였다. 1970年度부터 1萬臺를 넘는 數量으로 올라갔으며 1977年度에는 그 數가 急增하였으며 1979年度에는 15萬臺를 넘는 數에 到達하였다. 한편 單味 vaccine은 1975年度는 3萬臺를 넘는 數이나 漸次減少하여 1979年度에는 7千臺에 머무르게 되었다. 또 外國 輸入品도 1972年度에는 日本에서 1-4 lot 程度의 數量을 輸入하였다. 그러나 1978年度에는 Leptospira까지 混合된 vaccine을 輸入하게 되었으며 1979年度에는 26,316頭分을 ینگ크 distemper로 5,000頭分을 輸入하였다. 이것으로 보아 混合 vaccine은 漸次 增加해 가고 있으며 單味 vaccine은 生産 lot가 2lot에 지나지 않았다. 單味 vaccine은 앞으로 이례로 가면 없어지지 않느냐 하는 우려도 든다. 그리고 外國 輸入品은 거의가 tissue culture orgine이며 國內生産品은 鷄胎化 orgine이다. 그러면 이 distemper vaccine이 어떻게 開發이 되었으며 virus의 發見過程 및 研究에 對한 것 을 紹介하고자 한다.

이전의 犬 distemper라고 불리운 病은 所謂 distemper 症候群(distemper syndrome) 또는 distemper 病群(distemper complex)라고 불리운 것과 같이 實은 몇 가지 흡사한 病의 總稱이었다. 其後 微生物學的인 研究가 發展한 現在에는 True distemper 犬傳染性肝炎, 犬해루페스感染症 등으로 몇 가지 區別된 病으로 등장하게 되었다. 現在 犬 distemper라고 불리우는 病을 처음 記錄으로 남긴 것은 16世紀 에스파니아의 molina라고 記述한 書籍이라고 한다. 이 病이 傳染病이라고 明確히 記述한 것은 種痘를 證明한 有名な 英國의 Inner로서 1,800年代初라고 한다. 그는 이 病에 對해서 仔細히 記述했으며 distemper는 微生物에 依해서 病이 일어난다고 推定하였다. 그리고 英國에서는 적어도 1850年 以前부터 本病이 存在하고 있었다는 것이 明確히 記述되고 있다. 또 1882년에 Laesson은 이 罹病畜의 鼻分泌物 및 唾液으로 傳染한다고 하였고 實驗적으로 證明하였다.

1900年代에 들어와서 微生物學的의 發達로 distemper 病變部에서 大腸菌變形菌, Salmonella, Staphylococcus, Streptococcus 등 病原性細菌이 恒時 分離되며 其中에서도 呼吸器에서 Bordetella bronchiseptica가 高率로 分離되는 것으로 이것이 有力한 原因菌이라고 Ferry, Mcgowann, Hardenberg 등이 말함으로써 有力視된다.

그러나 培養한 氣管枝敗血症菌(B. b)를 犬에 人工感染시켜도 氣管枝肺炎을 일으키는 典型的인 distemper를 再現할 수 없었다. 그러므로 이 原因菌에 對한 全面的인 支持를 받을 수가 없었다. 그러나 그 當時 使用된 犬 distemper에 對한 感受성이 있는지 없는지 以前에 本病에 걸려 있었는지 또는 免疫이 되어 있었는지는 當時의 水準으로서 알 수 없었기 때문에 病犬의 材料를 感染 實驗에 使用하여도 잘 되지 않았을 것으로 생각되며 distemper는 傳染력이 強하기 때문에 完全隔離狀態에 飼育한 犬實驗은 不可能하였을 것으로 안다.

distemper가 濾過性病毒이라는 것을 實驗을 통해서 明確히 한 것은 1838年 프랑스의 Carre이다. 그는 病犬에서 얻은 材料를 細菌濾過器를 通過해서 얻은 濾液을 使用해서 犬에서 犬에 本病을 傳染시키는데 成功하였다. 1905年 virus病原說을 科學 Academi誌에 發表하였다. 그러나 이 說도 前記와 같이 實驗犬에 對해서 免疫學的인 問題를 考慮하지 않았다는 것과 今일에 있어서도 仔犬을 使用하여 人工感染에서도 發症한다는 것은 어렵고 追試하여도 반드시 成功한다고 보지 않기 때문에 virus說과 細菌說은 오랜 동안 對立하고 있었다. 그 當時 氣管枝敗血症菌의 不活化 vaccine을 만들어 豫防 實驗을 하였으나 어느 程度效果가 있었다고 하는 것으로 細菌說을 支持하는 사람이 많이 있었다. 그러나 virus學이 未發達한 當時 幼稚한 技術로서는 distemper 病原體가 virus라고 結論을 내린 Carre의 業績은 大端한 것으로 보아야 한다. 다음 1923年 Puntoni가 病犬의 臟器濾液을 犬腦內에 接種시켜 distemper感染을 成功시켰으며 犬에서 犬으로 또한 感染시켜 病犬으로부터 臟器乳和劑를 만들어서 formalin 不活化 vaccine을 만들어 實驗도 하였다.

以上과 같이 未確定되었던 時代인 1925年 英國의 獵犬 團體의 資金援助를 받아 distemper 撲滅委員會가 當時 最高의 微生物學者인 Laidlaw-Dunkin에게 이 問題를 맡기었다. 이들은 研究에 있어서 distemper의 完全感受性 있는 犬을 入手하는 것이 가장 重要한 것으로 생각하여 完全隔離한 狀態에서 飼育을 試圖하였다. 그러나 이것은 어렵고 空氣傳染을 考慮하여 研究室 人家에서 떠러진 곳에 飼育室을 지어 實驗動物도 仔犬代身に 흰 족제비를 使用하였다. 흰족제비는 distemper에 感受성이 넓으며 100% 發症하고 100% 死亡하는 것으로 本實驗을 하는 데는 適格實驗動物이었다. 患畜의 濾過液은 반드시 distemper를 感染시켰으며 病犬은 症狀이 나오기 전에 他犬에 感染시킬 수 있는 能力이 있으며 患畜에 分泌物만이 아니라 血液도 感染能力이 있다는 것을 證明하였다. 이 흰족제비를 使用해서 이들 病犬으로부터

6株의 病毒을 分離해 냈으며 어느 strain도 같은 感染力이 있었다. 또한 어느 株로서든 흰족제비를 免疫시켰을 때 他 strain으로서 攻擊해도 感染이 되지 않았다. 分離病毒은 또한 犬에서 흰족제비로 또反對로 흰족제비에서 犬으로도 感染시킬 수 있었으며 같은 免疫力를 가지고 있었다. 이들 研究 第1報은 1926年 Dunkin 및 Laidlaw名義로 比較病理學治療學雜誌에 報告되었다. 이로서 distemper는 光學顯微鏡으로는 볼 수 없는 濾過性病毒(filtable virus)으로서 일어나는 急性熱性傳染病이라는 것이 確認되었다. 이 病毒이 感染해서 發熱이 일어나면 몸의 抵抗力이 低下해서 여기에 細菌原因說에서 말한 氣管枝敗血症菌, *Salmonella* 등 二次性細菌이 混合感染을 일으키며 所謂 複雜한 distemper病이 생기게 된다. Laidlaw氏는 사람의 influenza病毒의 發見者이기도 하다. 1933년에 英國에 influenza가 流行했을 때 共同研究者 Smith 및 Andreus와 共히 distemper virus 研究때와 같이 흰족제비를 使用해서 病毒分離에 成功하였다.

Vaccine 發展史

한번 distemper病에 걸렸다 나으면 두번 다시 걸리지 않는다는 것은 오래 전부터 알려진 것으로서 Dunkin 및 Laidlaw에 依해서 病原體가 virus라는 것이 證明된後 이 virus를 利用하여 vaccine의 開發이 研究되어 왔다. 그 발자취를 살펴보면 다음과 같다.

不活化 Vaccine: 最初에 開發된 것은 Laidlaw-Dunkin法으로 알려진 不活化 vaccine에 依한 豫防藥이다. 이 不活化 vaccine은 病極期에 있는 患犬臟器中 第一 virus가 많이 含有된 腦, 脾臟 등을 乳劑로 해서 組織中の virus를 formalin 등 藥品으로 不活化한 것이다. 이러한 種類는 外國에서는 얼마 前까지만 해도 生産販賣되어 왔다. 日本의 例를 든다면 1963年統計에서는 微生物研究所, 松岡研究所, 日本 vaccine研究所의 3社에서 100,000ml의 製品이 生産되었다. 輸入品에도 distemper外에 犬傳染性肝炎, *Leptospira* 抗原, 여기에 二次性細菌의 氣管枝敗血症菌, *Streptococcus*, *Salmonella*, *Bacterim*을 含有한 美國 피트만포아社의 6種混合 不活化 vaccine 등이 있다. 美國內에서 市販되는 Leadale社의 不活化 vaccine은 오늘의 生 virus vaccine 모양 凍結乾燥로 되어 있으나 다른 不活化 vaccine은 液狀으로 되어 있다. 이들 不活化 vaccine은 製品에 따라 다르지만 1回量이 2-5ml인데 5ml인 것이 많고 1-2週 間隔으로 적어도 2回, 普通은 3回 接種하게 되어 있다. 예로는 10-14日 間隔으로 2回 接種한 후 仔犬이 12-18 月齡에 達할 때까지 3-4個月 間隔으로 1回量을 接種하

고 2回 때는 21個月後에 다음은 22月齡 여기까지 半年 間隔으로 接種을 하여 合計 5회를 接種하는 方法도 行하여졌다.

生 Virus Vaccine 併用: 其後 不活化 vaccine만으로 數回接種하여도 강한 持續性 있는 免疫을 얻을 수가 없으므로 이 不活化 vaccine으로 基礎免疫을 만들어 놓고 흰족제비를 通過한 毒性이 弱한 生 virus를 接種해서 강한 免疫力를 얻는다는 方法이 開發되었다. 標準의 인 接種方法으로는 于先 1회를 5ml의 不活化 vaccine을 10-14日 間隔으로 2回 皮下接種해서 基礎免疫을 만든 다음 2-3週後에 凍結乾燥한 生virus(感染흰족제비 臟器乳劑)를 0.5ml에 溶解해서 皮下에 接種한다. 이 生 virus는 病原성이 남아 있기 때문에 基礎免疫을 했더라도 生 virus接種後 2-10日에서 發熱 또는 食欲減退를 보이는 것이 大部分이다. 이때는 放置해 놓아도 自然回復이 된다. 그러나 10日以上 계속되거나 다른 症狀이 나오면 速히 2ml/kg의 免疫血清을 注射할 하여야 한다. 이렇게 해서 얻은 免疫은 강한 持續性 있는 免疫을 얻을 수가 있다. 이 강한 反應이 두려워서 生virus를 적게 놓거나 하면 免疫이 제대로 되지 않은 수가 있다. 또 너무 生virus量을 많이 注射해서 治療해도 낫지 않는 때가 있으므로 이 方法이 반드시 좋은 것이라고는 말할 수 없다. 같은 方法으로서는 不活化 vaccine을 數回接種하고 其後 自然感染시켜서 강한 免疫을 얻게 하는 것도 있다.

共同接種法: 같은 方法으로서 免疫血清과 生virus를 共同接種하는 것이다. 이 方法은 美國에서 豚콜레라 豫防에 應用한 方法이다. 이 方法은 歐州地方에서 오래 使用하였으나 東洋地方에서는 이러한 過程없이 生 vaccine을 實施하게 되었다. 元來는 最初부터 生virus와 免疫血清을 同時에 接種하는 것이 基本方法이나 조금 다른 方法으로는 미리 免疫血清을 注射하고 나서 1-2週後에 또 한번 兩者共同接種하는 方法과 또한 免疫血清만 多量 놓고 7-10日 後에 生virus만 接種하는 方法도 있다. 그러나 이러한 方法은 生virus의 多小, 毒力, 免疫血清効力の 바란스가 잘 맞지 않으면 輕한 發熱, 食欲減退 등으로만 끝나지 않으며 특히 仔犬의 寄生虫感染 등 抵抗力을 弱하게 하는 原因이 되기 때문에 早期治療를 하지 않으면 안된다. 그러므로 生virus의 量, 毒力の 強弱, 免疫血清에 依한 免疫이 1-2週間의 效果가 없어지는 것 등 缺點이 많기 때문에 좋은 免疫法이라고는 볼 수 없다. 그래서 開發된 것이 順化生virus vaccine이다.

不活化 Vaccine은 過去の 것인가: 오늘날 distemper 不活化 vaccine은 전혀 使用하지 않고 있지만 不活化 vaccine의 效果는 不活化抗原의 量에 左右되기 때문에

不活化 vaccine은 持續的인 強한 免疫을 얻지 못하는 것은 主된 virus量이 적은 때문이 아닌가 생각된다. 또한 製劑化에 있어서도 自然感染이든 人工感染이든 間에 病犬이 distemper라고 同定이 確實해야 하는 것과, virus含有量이 가장 많이 生産되는 病極期에 臟器採取하는 것과, virus의 抗原性이 變化되지 않게 하는 不活化方法, 不純物을 적게하는 것 등 여러 가지를 考慮하지 않으면 안된다. 그러하기 때문에 恒常 一定한 効力を 維持하는 vaccine을 製造할 수가 없지 않느냐 하는 것이다. 그러나 近年 組織培養法이 發達하여 多量의 virus를 純粹하게 比較的容易하게 培養할 수가 있으며 또한 不活化方法도 改善되었다. 그리하여 安全하고 保存과 應用이 容易하며 中和抗體에 影響을 받지 않는 것으로 보아 追加接種(booster injection)用으로 不活化 vaccine이 再次利用될 可能性도 있다.

生Virus Vaccine의 開發: 不活化 vaccine이 좋은가 生virus가 좋은가는 病의 種類에 따라 學者에 따라 意見을 달리하고 있으나 사람의 vaccine을 包含해서 vaccine는 그 病의 virus으로서 生virus vaccine이 優秀하고 大部分의 病이 生virus vaccine을 利用하는 方向으로 가고 있으며 사람의 포리오, 癩疹의 vaccine 開發의 歷史를 보더라도 明確히 알 수가 있다. distemper vaccine도 例外는 아니다. virus를 固有宿主 以外の 動物에 繼代해 가면 繼代에 使用된 動物에 對해서는 病原性이 漸次로 強하게 되고 反面 固有宿主에 對해서는 病原性이 弱해진다. 그리고 固有宿主에 對한 免疫原性은 變化되지 않는 順化方法을 利用 vaccine이 開發되었다.

원숙제비(히에렛) 順化 Vaccine의 開發: 원숙제비를 使用해서 順化實驗을 遂行한 것은 美國의 Green과 캐나다의 Watson이다. Green은 distemper vaccine으로서 널리 使用할 수 있는 히에렛 順化 vaccine을 作出하는데 成功하였다. 英國의 Laidlaw와 Dunkin이 不活化 vaccine 開發에 成功한 1925年度 美國 北部地方의 養狐場에서 傳染力이 強한 腦炎이 流行하였다. 이때 이 養狐場 主人은 當時 미네소타大學校 微生物學 教授인 Green에게 vaccine 開發에 對한 것을 依頼하였다. 그러나 其後 이 狐流行性腦炎은 1947年 스웨덴의 Rusbarth가 犬傳染性肝炎과 같은 virus에 依해서 일어난다는 것을 明確히 하였다. Green은 1930年 狐腦炎이 犬에도 感染하고 核內封入體가 있다는 것을 Shillinger와 같이 美國衛生學雜誌에 報告하였다. 이 狐腦炎을 研究하고 있을 때 이들 養狐場 distemper의 大流行이 있었다. 그래서 優秀한 本 vaccine 開發의 必要性을 要請하게 된 것이다. Green은 여러 가지 動物에서 分離한 distemper

virus의 많은 宿主가 다른 種類의 動物에 對해서 다른 病原性을 나타내는 것을 알았다. 그리고 이 distemper virus를 他感受性動物에 數代 繼代함으로써 病原性이 弱해진다는 것을 推定 원숙제비에다 狐에서 分離한 distemper virus를 69代繼代함으로써 狐, 犬에 對한 病原性을 弱화시키는데 成功하고 1939年 美國獸醫師會誌에 Suale와 共同名義로 報告하였다. 처음은 仔犬에 86% 發病하였으나 53代 繼代함으로써 8%의 發病率이었으며 68代에서는 vaccine 製造株로서 弱毒化에 成功하였다. 養狐家인 후로무 兄弟는 이 vaccine을 다른 養毛皮獸 養殖業者에게 提供하기 爲하여 vaccine 製造所를 設置 이것이 今日 動物用生物學的製劑 maker로 알려진 후로무 Laboratory로 發展하였고 그 다음으로 밍크로 養殖이 바뀌어졌으며 이로서 distemper vaccine은 없어서는 아니될 必須 vaccine으로 등장하게 되었다.

원숙제비 順化 Vaccine의 評價: distemper-oid vaccine의 效果에 對해서는 開發者 Green 以外 1942年의 Stader를 爲始하여 Philips, Storey, Smith 등의 많은 사람이 報告하였고 生産된 vaccine도 優秀하다고 하였고 1954年에서 1959년까지 6年間 5名의 報告例로서는 2,433例中 發症 0.65%, 斃死 0.2%라는 數値가 나오고 있다. 日本에서는 1962—1963년에 많은 臨床家에 依해서 臨床應用成績이 發表되었다. 그 一例은 1963年 4月의 日本獸醫師會雜誌의 米倉, 太田 등의 報告를 보면 體溫上昇, 下痢, 軟便, 食欲不振, 鼻漏, 目에 나타났으며 接種後反應은 12頭中 5頭가 보였다. 그러나 數日後 治癒되었다. 白血球數도 接種後 4—5日에서 減少하지만 5—10日後에는 顯著하게 增加해서 2—3日後 平常으로 돌아왔다. 中和抗體價는 1個月後가 最高이며(165—11,200) 9頭는 2,795以上の 數値를 보였다. 이와 같이 順化 vaccine은 抗體產生能力이 優秀하지만 1954—1959年 北美獸醫學雜誌에 發表한 Philips, Sudduth, Vine 등의 報告에 依하면 接種犬의 10—30%에 發熱, 下痢, 嘔吐 등이 보이며 특히 Smith는 3.9%의 犬에는 臨床的으로 distemper의 症狀이 보였다 한다. 그러나 其後 順化는 더욱 進展되어 이러한 反應이 없어졌으며 接種된 vaccine virus도 排泄된 것이 他犬에 感染하지 않았다는 것이 確認되었다. 그러나 以上과 같은 副作用 때문에 좋은 抗原性이 있어도 使用할 수가 없었으며 後에 이 vaccine이 發展하여 組織培養에 順화된 副作用도 없는 distemper oid T.C. vaccine이라는 것으로 實用化되었다.

鷄胎化 Vaccine의 發展: 원숙제비 順化 vaccine에서 副作用을 完全히 除去하지 못한다는 것과 원숙제비의 價格이 高價하다는 點에서 다른 肉食動物 以外 宿主

에서 增殖을 하는 것이 좋을 것이라는 着眼에서 發育鷄卵에 試驗을 行하게 되었다. 이것은 18世紀頃부터 發生學者들은 鷄胎兒 등을 使用하였다. 그러나 實驗動物로서 처음 使用한 사람은 鷄痘의 基本小體인 Borrel 小體 發見者로 알려진 Borrel와 그 弟子인 Levaditi라고 한다. 그러나 virus를 增殖시키기 爲하여 使用한 것은 닭의 惡性腫瘍인 라우스 肉腫의 virus를 이 方法으로 研究하여 發見했으며 그 當事者는 록크레라 研究所의 Rous(1910年頃)이다. 其後 많은 學者가 發育鷄卵을 利用하여 研究를 行하였으며 Goodpasture의 아이디어에 依하여 弟子 Woodruff夫妻가 發育鷄卵의 漿尿膜을 使用 鷄痘 virus 增殖에 成功하였다. distemper virus를 發育鷄卵에 增殖한 사람은 Pulmuer(1939)이며 Green의 흰족제비 順化 virus를 發育鷄卵에 11代 繼代하였더니 흰족제비에 對한 病原性이 없어졌다고 發表했다. 其後 2年(1941), Horsfall 등은 흰족제비 順化 virus 뿐만 아니라 野外 Distemper 病犬에서 分離한 virus로 發育鷄卵에 增殖할 수 있었다는 것을 確認하였다. 1948年 南 Africa의 Haig 등은 Green의 흰족제비 順化 virus를 發育鷄卵에 增殖하여 이것을 20代 繼代함으로써 흰족제비에 對한 病原性이 없어지고 더욱 90代 繼代해서 犬腦內에 接種해도 發病이 안되는 virus를 얻는데 成功하였다. 이 vaccine株는 오늘날 鷄胎兒化 vaccine (avianized virus vaccine)으로서 널리 使用되고 있는 株中 代表的인 것은 onderstepoort株라고 한다. 翌年 美國 Lederle社의 Cabosso Cox는 Green의 흰족제비 順化 virus가 아닌 distemper 病犬에서 直接 分離한 virus를 發育鷄卵에 增殖시키는데 成功하였다. 그리고 이들 病犬에서 얻은 virus를 흰족제비에 感染시켜 이것을 發育鷄卵에 4代 繼代하고 其後 또 흰족제비에 다시 感染시켜 再次發育鷄卵에 感染시키며 繼代하는 操作을 몇번이고 계속 繼代해서 74代의 發育鷄卵을 通過시킨 結果 개와 흰족제비에 對한 病原性은 없고 강한 免疫效果가 있는 株를 얻는데 成功하였다. 이것이 Lederle株로서 鷄胎兒化 生virus vaccine製造에 使用하였다. 이 Lederle社의 鷄胎兒化 vaccine은 日本에서는 1952년에 처음으로 輸入되어 그 臨床觀察成績을 發表한 것은 獸醫畜産新報(No. 84, 295—9)이다.

日本の 生Virus Vaccine: 先進外國에서는 最初에 不活化 vaccine을 使用한 時代를 지나 上記와 같이 生 virus vaccine의 效果를 認定, 使用하게 되었으며 이것이 日本에 輸入하게 된 것은 1957—8年이었으며 이 무렵에는 日本에서는 아직 本vaccine의 生産은 없었다. 輸入會社는 美國의 Lederle社, 네덜란드의 듀파, 西獨의 베링크베르케社 등에서 鷄胎兒化 vaccine을 輸入使用

하게 되었다. 其後 一般愛犬家들의 要望에 따라 1959年 日本獸醫學會內的 犬 distemper 研究委員會를 組織 많은 專門家가 生virus vaccine의 開發에 參與하였다. 한편 1958년에 武田藥品의 涉木, 金子 兩氏가 Distemper 病犬 31頭에서 13株를 分離하고 이것을 發育鷄卵에 繼代해서 3株의 鷄胎兒 virus 獲得에 成功 報告하였다(日本獸醫師會雜誌 1958年—61年). 이때 vaccine virus株의 하나인 H-15-E株를 使用하여 처음으로 鷄胎兒化 virus vaccine을 만들어냈다. 이것이 처음 市販된 것은 1959년에 武田藥品, 其後 化血研, 日生研, 化研, 微研 등이며 strain은 흰족제비, 핑크를 通過해서 鷄胎兒化시킨 株를 使用하였다.

鷄胎兒化 Virus의 性質: 鷄胎兒化 virus는 7日 發育卵의 漿尿膜에 接種하면 周圍에 浮腫을 동반하는 灰白色의 點狀結節이 된다. 이것이 漸次로 크게 되어 서로 癒合해서 帶狀의 病變을 만든다. 이와 같이 發育鷄卵으로 virus 增殖이 肉眼的으로 確認할 수 있기 때문에 一定量의 鷄胎兒化 virus를 使用하면 이 方法으로 容易하게 中和抗體의 量을 測定할 수가 있다. 이것의 測定方法開發로 distemper 研究는 많은 進展을 보았다. 이들 鷄胎兒化 virus는 개와 핑크에는 全然 病原性이 없다. vaccine를 接種하면 virus는 主로 肺에서 增殖을 하고 6—8日後에는 接種했을 때보다 100倍의 virus量이 된다 其後에는 抗體量의 增加에 따라 減少하고 接種後 18日까지는 virus를 確認할 수가 있다. 鷄胎兒化 vaccine에 含有된 virus量을 測定하는 方法은 나중에 說明하기로 한다.

組織培養 生Virus Vaccine 開發: 鷄胎兒化 vaccine은 現在도 널리 利用되고 있지만 組織培養法이 '發達함에 따라서 鷄胎兒化 vaccine보다도 異物即, 蛋白質이 적어 生體內에서 增殖이 빠르며 좀 더 優秀한' 抗原性을 가지고 있고 發育鷄卵을 使用하는 것보다 싸고 容易하기 때문에 組織培養을 利用한 vaccine 開發이 進行되었다. 이 組織培養은 벌써 1907년에 에—루大學校의 Harrison이 사람의 神經纖維를 人工的으로 增殖시키는데 成功한 것이 最初이다. 其後 1913년에 Steinhardt 등이 virus 培養에 이 方法을 應用하였다. distemper virus를 第1 번 本法를 利用한 사람은 Kantrowicz (1930)이다. 其後 Mitscherlich에 依한 懸滴培養法을 利用하였다. 其後 1957年 스위스의 Rockborn이 개의 腎臟上皮細胞의 virus를 增殖시키는데 成功하였다. 이것을 24代 繼代하였으나 아직 개, 흰족제비에 病原性이 있었고 50代 繼代하였더니 病原性이 없어졌다 한다. 이 virus를 利用하여 組織培養生virus vaccine(tissue culture adapted live virus vaccine)을 만들어 냈으며

virus價는 鷄胎化 virus 價보다 1ml當 100倍가 넓었다 한다. 其後 鷄胎化 vaccine의 Leadale株를 開發한 Cabasso도 1959年에 鷄胎化 virus를 鷄胎兒纖維芽細胞에 培養시키는데 成功하였다. 또한 피트만모아社의 York, Bittle, Burch 등도 Wellcome 研究所의 Piercy 등은 鷄胎化 virus를 犬腎臟細胞培養系에 順化시키는데 成功하였다.

組織培養順化 Virus의 性質: 이 virus를 組織培養했을 때 株에 따라서 細胞變性効果(cytopathogenic effect, CPE)를 나타내는 것과 나타나지 않는 것이 있다. 一般적으로 CPE가 나타나더라도 確實하게 나타나는 것이 아니고 그것도 늦게 나타나는 것이 많다는 것이다. Rockberni 順化한 株는 巨細胞가 나타난다고 하였으며 onderstepoort株를 鷄胎兒纖維芽細胞에 順화시킨 Karzcn의 報告에서는 確實한 CPE가 일어난다고 하였다. 組織培養增殖에 있어서 CPE가 나타나고 안 나타나는 것은 virus量을 測定하는데 重要하다. 本法를 利用했을 때 組織培養 50% 感染量(TCID₅₀)을 表示하며 CPE가 나타나지 않을 때는 他感受性宿主即, 發育鷄卵에 接種해서 virus量을 測定한다. 發育鷄卵 50% 感染을 EID₅₀으로 表示한다. 他赤血球凝集素, 補體結合抗原, 封入體, 螢光抗體 등을 利用한 間接測定法이 있다. 組織培養 vaccine은 鷄胎化 vaccine 원주제비 順化 vaccine과 같이 感染組織을 材料로 한 vaccine에 비해 漿尿膜組織由來의 蛋白質이 大端히 적기 때문에 vaccine液은 透明하고 指示藥의 phenol red 때문에 약간 불그스레하다. 接種後 體內的 virus 增殖은 빠르고 優秀한 抗原性이 나오며 組織由來蛋白에 依한 anaphylaxis 反應 등 副作用은 매우 적어졌다. Sinha 등에 依하던 IOEID₅₀은 大端히 적은 virus 量에서도 充分한 免疫을 줄 수가 있었으며 또한 鷄胎化 virus보다 抗體가 나타나는 것이 빠르다고 한다. 組織培養 vaccine의 利點을 要約하면 다음과 같다. ① 組織培養에 順화시켰을 때 特別히 抗原性이 優秀한 것을 選定해서 使用할 수 있다. ② 鷄胎化 vaccine 中에 含有된 組織由來蛋白은 vaccine virus와 結合해 있을 可能性이 있으며 組織培養 vaccine에는 蛋白質이 적게 含有되어 있으므로 virus는 裸體狀態이므로 生體內에서의 抗體產生反應을 일으키는 것이 빠르기 때문에 적은 virus量으로서도 足하다. ③ 發育鷄卵에 增殖시킨 virus와 組織培養에서 增殖한 virus에서는 化學的組成이 다르기 때문에 生體內에 있어서 增殖力의 差가 있다. 그러나 組織培養 vaccine에는 全혀 缺點이 無다고는 볼 수 없다. 그 하나는 鷄胎兒纖維芽細胞와 같이 異種細胞를 利用했을 때는 關係가 없으나 犬腎臟細胞와 같이 同種細胞인 경우 不顯性感染에 依한 distemper와 傳染性肝炎 또는 白血病 등

virus의 迷入이 우려된다. 白血病 virus 등은 그 本態는 完全히 明確해지지 않았으므로 困難한 點이 많다. 이러한 危險을 防止하기 爲해서는 細胞의 性格이 確實한 株化細胞(cell line)를 利用하면 된다. 그러나 腫瘍의 原因이 되는 危險性은 아직도 完全히 除去하지 못하고 있다.

Distemper 混合 Vaccine: distemper vaccine에는 distemper virus 單獨인 것과 他 virus 또는 Leptospira를 含有한 vaccine이 있다. 처음 開發한 不活化 vaccine에는 細菌成分도 含有한 vaccine도 있었다. 그러나 오늘에 와서는 이러한 vaccine은 없다. distemper와 犬傳染性肝炎의 2種의 virus를 含有한 것이 그 大部分이며 여기에 Leptospira의 가니코라, 이크레로, hemorrhage의 再成分을 含有한 3種混合 또는 4種混合 vaccine이 있다. 歐美에는 여러가지 種類가 있으나 現在 國內에도 여러 會社의 輸入品과 國產 vaccine이 있다. 2種混合 生virus vaccine의 傳染性肝炎成分은 生virus인 것과 不活化 virus인 것도 있으나 國產品 및 輸入品 大部分은 前者이며 後者は 메링크베루게社의 製品 뿐이다. distemper, 傳染性肝炎, Leptospira病, 3者は 全體 distemper病이라고도 한다. 이病 大部分이 同時에 流行을 하기 때문에 1回接種으로서 이들 病을 豫防한다는 것은 甚 便利한 것이다. 反面 2種類 以上の 抗原이 混合되어 있으면 이것이 生體內에 들어갔을 때 나쁜 影響을 주며 抗原性이 떨어지지 않느냐 하는 것도 생각이 된다. 特別히 兩 virus가 生virus인 때는 서로 干涉하지 않느냐 하는 것도 생각하게 된다. 이러한 點에 對해서 意見差에 따라 傳染性肝炎인 때는 virus 成分을 不活化 virus로 使用하는 製品도 있다. distemper와 傳染性肝炎이 混合感染이 일어나는 것은 코넬大學校 Baker, Gillespie 등이 virus學的으로 證明하였다. Wellcome 研究所의 Prydie 등은 犬腎臟組織培養系에 distemper順化 virus와 傳染性肝炎順化 virus가 同時에 增殖하는 것을 螢光抗體法에 依해서 證明되었다 한다. 그러나 Howell, Keeble, Ackerman 등은 干涉이 일어난다고 하였다. 日本의 升, 吉村, 兩氏는 1962年 日本獸醫學會報告에서 混合 vaccine은 單獨成分을 接種했을 때보다 抗體上昇率이 좋지 않다고 하였다. 獨一과社 Bosgra에 依하면 2種混合 vaccine은 distemper 成分에 比해서 肝炎成分이 더 安全性이 있고 室溫에 放置해 두었을 때 distemper 成分의 virus價는 急速히 내려가나 傳染性肝炎 virus價는 比較的 넓은 價를 가지고 있었다. 그러므로 兩virus의 比率에 對해서 試驗한 英國의 Howell은 distemper virus 3.7 EID₅₀에 對해서 肝炎 virus 2.0 TCID₅₀ 以下라는 것을

말하고 있다.

犬 Distemper Vaccine의 Measles Virus 應用 : 이 때까지 vaccine 應用에 있어서 犬 distemper는 母體移行抗體가 長期間 殘留하고 있으므로 vaccine program 을 짜는데 仔犬時 vaccine 接種에 있어서는 殘存移行抗體 때문에 抗體產生에 妨害가 되었다. 그러므로 最近에는 같은 paramyxovirus屬에 屬하고 抗原성이 같은 Measles virus 順化株를 利用 vaccine으로 使用하게 되었다. 第1 먼저 本株를 利用試驗한 것은 1961년의 Monra Rokesto가 仔犬에 Measles 順化株를 接種하여 血中抗體가 生成되지 않았음에도 distemper 強毒攻擊에 耐過하였다고 報告하였다. 1970年 Gonrlay는 母體移行抗體에 依한 防禦와 distemper 免疫과의 교량 役割을 할 수 있다고 하여 measles virus를 권장하였다. 同年 Ablett는 6週齡 仔犬에 measles vaccine를 利用할 것을 권장하였다. 또한 同年 Slator도 역시 immunosuppress된 개와 正常犬에 measles virus를 接種한後 攻擊毒을 注射한 結果 distemper를 防禦하였다. 1979年 Krakowlea는 母體移行抗體가 있는 仔犬에 measles virus를 接種하여 distemper 防禦에 對한 中和抗體, interference 및 共通抗體產生을 報告하였고 同年Gerder는 distemper 豫防接種은 細胞免疫과 液體免疫反應을 일으키나 measles virus를 接種하면 細胞免疫反應만 일으키므로 母體抗體가 殘存하는 것도 免疫을 일으킬 수 있다는 것이 가장 重要한 免疫機轉이 된다고 報告하였다. 오늘날 measles 順化 vaccine은 濠州에서는 이미 一般市販이 되고 있으며 다른 나라에서도 큰 관심을 가지고 試驗中에 있다. 우리 나라에서도 今年度부터 試驗을 하여 좋은 成績이 나오면 앞으로 이 virus와 混合 vaccine을 製造할 豫定이다.

Distemper Vaccine 國家檢定 : distemper vaccine (傳染性肝炎 virus leptospira混合)의 充分한 效果와 安全性을 保證하기 爲해서 모든 動物用 生物學的製劑는 國家가 定하는 基準에 따라 檢定을 한다. 現在 實施하고 있는 distemper 混合 vaccine의 檢定基準에 對해서 概略的으로 說明한다면 다음과 같다.

1) 試驗項目 : 特性試驗, 純粹試驗, 無菌試驗, 安全試驗, 眞空度試驗, 含濕度試驗, 同定 및 迷入 virus 否定試驗, virus 含有量試驗, 力價試驗의 9個項目이다.

2) 特性試驗 : 肉眼的으로 檢査하며 異物異臭가 없고 性狀이 均一하여야 한다.

3) 眞空度試驗 : 凍結乾燥한 vaccine은 空氣中에 酸素 또는 濕氣에 依한 影響을 防止하기 爲하여 瓶마다 眞空狀態를 維持하지 않으면 안된다. 테스트 코이르를 近接시켜 火花放電으로서 眞空度を 알 수 있다.

4) 含濕度試驗 : 眞空도의 維持가 나쁘고 濕氣가 있으면 力價의 低下가 일어나기 때문에 含濕度は 重要하다. 含濕度を 測定할 때는 5mmHg의 減壓된 場所에서 60°C 3時間間隔 그 前後에 무게의 減度를 %로 表示한다. 含濕度は 4%以下여야 合格이다.

5) 無菌試驗 : 液狀지오크리코레트培地 뉴트리엔트 부로스, 뉴트리엔트 아가培地를 使用한다. 培地當 2個씩 培養하여 22°C, 37°C 各 2個所에 7日間 培養하여 觀察한다.

6) 純粹試驗 : 塗抹標本은 기무사 染色 또는 普通染色을 하여 菌을 確認한다. 死菌이라도 菌體가 있으면 안된다.

7) 安全試驗 : 마우스 10마리 guinea pig 2마리 各 5마리에 注射해서 그 反應與否를 살펴 본다. 마우스 5마리는 腦內에 0.03ml 다른 5마리는 腹腔內 5ml 接種하고 10日間 觀察한다. 各 3마리는 規定量接種 他 2마리는 對照로 21日間 觀察하여 異常有無를 본다.

8) 同定 및 迷入 virus 否定試驗 : 含有된 virus가 distemper virus인가를 同定한다. vaccine과 같은 量의 Distemper 特異高度免疫血清을 混合해서 4°C에 18-24時間 感作시켜 놓고 미리 犬腎臟細胞를 培養해 놓은 試驗管 10個에 0.1ml씩 接種 37°C에 7日間 培養하고 犬腎臟細胞에 變化가 일어나는가를 觀察한다. 萬若 distemper virus면 特異免疫血清에 中和되어서 犬腎臟細胞에 增殖하지 않고 細胞에도 아무런 變化가 없다. 迷入 virus 確認試驗은 犬腎臟細胞에 接種하여 確認한다. 이것은 製造用培養細胞, 培地에 使用되는 血清에서 Herpes virus, Reo virus, 白血病 virus, 其他 原虫 등이 들어갈 可能性이 있으므로 使用되는 材料에 對해서 注意를 기하여야 한다.

9) Virus 含有量試驗 : 鷄胎化 vaccine에서는 7日齡 發育卵을 組織培養 vaccine은 vaccine製造時 使用했던 種類의 培養細胞를 使用測定한다. 鷄胎化 vaccine은 vaccine原液을 緩衝液으로 10倍階段稀釋하고 그 0.2ml씩을 各 6個씩 7日齡發育卵의 漿尿膜에 接種하고 35-37°C에서 7日間 培養한다. virus含有量이 많으면 高稀釋의 卵에도 病變이 나타난다. 이 稀釋倍數에서 一定한 方式으로 50% 鷄胎兒感染價 EID₅₀을 算出하고 1頭當 10^{3.5} EID₅₀가 되지 않으면 안된다. 組織培養 生virus vaccine은 培養細胞로서 어느 稀釋液까지 病變이 나타나는가를 調査하고 50% 組織培養感染價 (TCID₅₀)를 求한다. 合格은 1頭當 10^{-3.5} TCID₅₀以上이다. distemper oid株라고 하는 흰족제비 順化 virus인 때는 階段稀釋液 virus을 各 各 2頭의 抗體陰性犬에 對해서 犬 1頭當에 相當하는 量을 皮下에 接種하고 3週後에 中和抗體를 檢査한 結果 犬 1頭當感染價는 10^{2.0}以上이어야 한다.

10) 力價試驗 : Vaccine을 實際犬에 接種한 後 強毒 distemper virus (Snyder Hill 株)을 腦內接種方法에 依한 攻撃을 한다. 그래서 耐過하는가를 臨床觀察한다. 이것은 새로운 製品承認申請이 있을 때 實施한다. 安全試驗을 끝낸 개를 利用해서 攻撃 virus는 10% 臟器乳劑 0.5ml를 腦內接種後 14日間 觀察한다.

11) Leptospira 力價試驗 : 40—50g 합스타 10마리 中 5마리는 試驗群 5마리는 對照群으로 한다. 5마리 試驗群은 使用量 1/80量을 接種 14日後 強毒 Leptospira를

試驗群과 對照群 同時에 接種 14日間 觀察期間中 試驗群은 4頭 以上 生存, 對照는 4頭 以上 죽어야 한다.

其他 distemper 混合 vaccine中 免疫血清과 virus 成分을 中和한 材料에 對해서는 犬腎臟細胞를 使用해서 感染價를 測定하고 犬 1頭當 $10^{3.0}$ TCID₅₀ 以上이어야 한다.

以上과 같이 各試驗에 合格된 製品은 檢定證을 發行 첨부케 하여 製造所로 하여금 販賣하게 된다.