

뉴캐슬병 라소생독 백신에 관한 시험

장 세 창

(주)대성미생물연구소 상무이사)

뉴캐슬병 바이러스는 믹소 바이러스에 속하고 병원성에 따라 3 가지 형으로 분류되며 독주에 의하여 병원성과 조직친화성이 다르다.

1. 약독주 (Lentogenic strain)

이는 B₂주, F주, V4주, Lasota주 등이 이에 속하며 발육계란의 최소치사량을 접종하여 계태아를 죽이는 것이 100시간 이상 걸리며 뇌조직에는 증식성이 없고 호흡기 계통에 친화성을 가지고 있다.

2. 중간독주 (Mesogenic strain)

대표적인 독주는 Roakin, MK107, Komarov이며 발육계란에 최소 치사량을 접종하여 계태아를 죽이는 시간은 약 60~70시간이 걸리며, 자연감염에서는 뇌내 증식성이 없으나 인공감염으로는 증식이 되며 성계에 대한 병원성이 거의 없고 주로 호흡기와 소화기 계통에 친화성을 갖는다.

3. 감독주 (Velogenic strain)

대표적인 독주는 TexasGB, CalifRO, 교정원주 등이며 발육계란에 최소 치사량을 접종하여 계태아를 죽이는 시간은 약 50시간정도 걸리며 닭에 대한 병원성은 연령에 차이

없이 발병하며 죽는율도 가장 높고 범장기성으로 병독이 증식한다. 이상의 뉴캐슬병 바이러스는 병원성에 따라 3형으로 분류되고 있으나 닭에 대한 면역원성은 동일한 것이다.

I. 시험목적

현재 우리나라에서는 뉴캐슬병 B₁생독 백신을 음수법으로 많이 사용하고 있으며 구미 각국에서는 오래 전부터 뉴캐슬병 B₁주보다 역사가 더 높은 Lasota주를 사용하여 만든 생독백신을 많이 사용하고 있다. 우리나라에서도 혈청역가와 방어력이 B₁주보다 높은 Lasota주를 사용하여 만든 생독백신을 개발시켜 뉴캐슬병에 대한 예방효과를 높이고자 한다.

연구사

뉴캐슬병에 대한 집단면역 방법은 Hitchner Luginbuhl Markham 등에 의하여 많은 연구가 거듭되었다. 그리고 Winterfield는 뉴캐슬병독의 B₂주, F주 및 Lasota주를 사용하여 Water Vaccine에 의한 면역효과를 비교 시험한 결과 Lasota주는 B₂주나 F주보다 혈청역가나 방어력이 월등히 높은 성적을 얻

었다. 또 국내에서 성계에 B₂생독백신과 Lasota 생독백신을 접종하여 양자 모두 접종 반응이 전혀 없었고, Lasota 주로 만든 백신이 B₂주로 만든 백신보다 혈청역가가 더 높고 오래 지속되었으며 한편 뉴캐슬병 사독백신과 생독백신을 재접종하였을 때도 사독백신을 접종한 계군보다 생독백신을 접종한 계군의 혈청역가가 더 높다는 성적을 얻었다.

II. 재료 및 방법

1. 공시 뉴캐슬 병독주 Lasota 주는 미국 ABBOTT 회사와 가축위생연구소에서 대성 미생물연구소가 연구용으로 분양받아 3대 계대하에서 사용하였으며 B₂ 독주 및 교정원 강독주는 가축위생연구소에서 분양받은 것을 사용하였다.

2. 공시 종란은 추백리 및 마이코프라스마 음성인 백색레구혼 종란을 사용하였고 공시 닭도 추백리 와 마이코프라스마 음성인 백색레구혼 종을 사용하였다.

3. 공시 예방약은 Lasota 주와, B₂주를 각각 11일란의 계태아에 접종하여 72시간 배양한 후 제조기준에 따라 제조하였다.

4. 닭에 대한 음수법은 예방약 접종전일 저녁에 물을 모두 제거하고 이튿날 아침에 음수 급여전 예방약을 약의 사용량으로 희석하여 2시간 동안 모두 섭취시킨후 접종 14일에 혈청역가와, 공격독을 접종하여 방어력을 조사하였다.

5. 뉴캐슬병 라소백신의 약의 시험은 부곡 삼리 소규모 양계장에서 실시하였고 백신접종 4일전에 Erythromycin을 3일간 급여하여 세균성 질병을 예방한후 음수법으로 백신을 접종하였고 접종반응과 면역효과를 측정하였다.

6. 라소백신과 사독백신을 성계에 접종하여 혈청역가와 방어력 비교.

5개월된 동일한 계군에 라소백신은 음수법으로 실시하였고 사독백신은 근육내 접종하여 접종반응과 면역효과를 조사하였다.

III. 시험결과

1. 시험백신의 무균시험

시험백신은 각종 세균배지에서 인정할만한 세균이 검출되지 않았으며 동시에 Selenate 액체배지, 벅공기배지, 마이코플라스마배지에서 살모넬라와 마이코플라스마균이 검출되지 않았다.

2. 혼입바이러스 검출시험

1,000수분의 시험백신을 30ml의 멸균증류수에 무균적으로 용해시켜 용해액과 뉴캐슬 고도면역혈청을 가하여 4℃에서 4시간 동안 잠각시킨후 바이러스 혈청혼합액 0.1 ml 씩을 10일령 발육란 장노막강내 그리고 6일령의 난황내에 접종한다. 장노막강내 접종란은 8일간 장노막강난황내 접종을 5일간 배양하면서 계태아의 폐사 및 병변의 유무를 조사하였다. 시험결과 장노막에 포크형성은 전혀 없었으며 태아는 모두 정상으로 발육하였다.

3. 시험백신의 계태아에 대한 감염역가

시험백신을 37℃ 및 5℃에 5일간 보존한후 P, B, S액으로 용해하여 10진법으로 희석한후 각희석액을 발육란의 장노막강내에 0.1 ml 씩 접종하여 4~5일간 배양한후 노강액을 채취하여 혈구응집성을 조사하여 양성인 것을 감염된 것으로 보고 EID₅₀/ml를 산출하였다.

시험결과 표 1 과 같이 5일간의 보존온도가 5℃에서는 <EID₅₀/수당>이 7.4 였으나 37℃에서는 6.3으로 한단계 떨어졌다.

표 1. 라소백신의 계태아에 대한 감염역가

백신	보존 온도	EID ₅₀ /수당
라소백신	37℃	6.3
"	5℃	7.4

표 2. 라소백신을 음수법으로 4 주령추에 접종후 혈청역가와 방어력

예 방 약	닭 수	혈 청 역 가								평 균 혈 청 역 가	방 어 력
		5.	10.	20.	40.	80.	160.	320.	640.		
라 소 백 신	20		2	3	4	5	4	2		384	100%
대 조	5	<5								<5	0%

시험백신역가 : $10^{7.4}$ EID 50/수당

4. 라노백신의 안정성

뉴캐슬병백신 미접종의 건강한 3 일령추, 1 주령추, 3 주령추를 일령별로 계군당 20 수씩 3 계군을 격리수용하고 시험백신을 야외 사용량으로 희석하여 근육주사, 비강 및 음수 접종을 한후 3 주간동안 임상관찰을 하였다. 시험결과 병원성을 전혀 관찰할 수 없었으며 따라서 호흡기 장애나 식용감퇴 등 2 차적인 발병을 유발 하지 않았다.

시험결과 표 2와 같이 4 주령추의 음수접 종법으로 접종후 평균혈청역가는 384 배로 높은 역가를 보유하고 있고 방어력도 100% 이었다. 대조군에서 혈청역가가 5 배 이하였던 것은 공격독 접종으로 모두 폐사하였다.

5. 라소백신을 음수법으로 4 주령추에 접종후 혈청역가와 방어력 조사

뉴캐슬병에 감수성이 있는 4 주령추에 시 험백신을 야외사용량으로 희석하여 음수법으 로 접종하고 1 계군은 접종하지 않는 대조군 으로 하며 백신접종 2 주후에 채혈하여 혈청 역가를 측정하고 공격독으로는 뉴캐슬병 교 정원 10^4 EID50/수당을 근육내 접종하고 2 주동안 임상관찰 하였다.

6. 라소백신과 B₂생독 백신을 4 주령추 에 각각 음수백신으로 접종후 혈청역가와 방어력의 비교

뉴캐슬병 감수성이 있는 4 주령추를 3 계 군으로 격리 수용하고 1 계군에는 라소백신 또 1 계군에는 B₂생독백신을 야외사용량으로 희석하여 각각 음수법으로 접종하고 1 계군 은 접종하지 않는 대조군으로 한다. 백신 접종 2 주후에 각 계군마다 채혈하여 혈청역 가를 측정하고 공격접종으로는 뉴캐슬병 교 정원주 10^4 EID50/수당을 근육내 접종하고 2 주동안 임상증상을 관찰하였다.

뉴캐슬병 라소백신과 B₂백신으로 4 주령추

표 3. 라소타백신과 B₁과 생독백신을 4 주령 추에 음수접종후 혈청역가와 방어력 비교

예 방 약	닭 수	혈 청 역 가								평 균 혈 청 역 가	방 어 력
		5.	10.	20.	40.	80.	160.	320.	640.		
라 소 타 백 신	25		1	2	6	8	5	3		430	100%
B ₁ 백신	25		1	4	6	8	4	2		130	100%
대 조 군	5	<5								<5	0%

라소백신역가 : $10^{7.4}$ EID 50 / 수당

B₁백신역가 : $10^{7.5}$ EID50 / 수당

에 대한 면역비교시험은 표 3 과 같이 라소백신의 평균혈청 역가는 430배이었고 B2생독백신의 평균혈청역가는 130배로서 라소백신의 혈청역가가 월등히 높았다. 한편 공격독에 대한 방어력은 양자 모두 100% 방어력을 유지하였고 대조군에서는 혈청가가 5배이하로 모두 폐사하였다. 백신접종후 혈청역가가 낮을시 초기에는 뉴캐슬병에 대한 방어는 할 수 있으나 장기간 지속되면 혈청역가도 빨리 소실되고 방어력도 없어진다. 혈청역가가 높으면 면역지속기간이 길어지고 뉴캐슬병도 완전하게 방어 할 수 있다.

7. 라소백신의 야외접종 반응 및 효력조사

회사근동 소규모 양계장의 뉴캐슬병에 감수성이 있는 4주령추 940수에 지마이신P-F를 3일간 투여하여 세균성질병을 억제한 후 라소백신을 야외 사용량으로 희석하여 음수법으로 접종하고 10수는 대조군으로 접종하지 않고 격리수용하였으며, 백신접종후 임상관찰을 하면서 14일에 20수를 임의로 선정하여 회사계사로 옮긴후 채혈하여 혈청역가를 측정하고 공격독으로 뉴캐슬병 교정원주 10^4 EID50/수당을 근육내 접종하고 2주동안 임상관찰을 하였다.

라소백신의 야외접종 반응시험은 표 4와 같이 백신접종후 임상관찰 결과 병원성은 전

표 4. 라소백신의 야외 접종반응 및 효력조사

예 방 약	접종수	채혈 및 공격수	혈 청 역 가							평 균 혈청역가	방 어 가
			5.	10.	20.	40.	80.	160.	320.		
라소다백신	930	20	1	3	3	4	6	2	1	275	100%
대 조 구	10	10	< 5							< 5	0

표 5. 라소백신과 사독백신을 성계에 접종후 혈청역가와 방어력비교

예 방 약	접종수	접 종 전 혈청역가	접종후채혈 및 공격수	혈 청 역 가							접종후평균 혈청역가	방어력
				10.	20.	40.	80.	160.	320.	640.		
N. D 라소백신	1,324	32	20	1	3	7	6	3		260	100%	
N. D 사독백신	536	32	20	2	6	6	5	1		180	100%	

혀 관찰할 수 없었으며 호흡기 장애나 식욕감퇴등 2차적인 발병도 유발하지 않았다. 그리고 평균 혈청역가도 275배로 높은 역가를 보유하고있고 방어력도 100%이었으며, 대조군은 공격독 접종으로 모두 폐사하였다.

8. 라소백신과 사독백신을 성계에 접종후 혈청역가와 방어력비교(야외)

평균혈청가가 32배된 성계(5개월령)를 2계군으로 분리수용하고 1계군에는 라소백신을 야외사용량으로 희석하여 음수법으로 접종하고 또 1계군에는 사독백신을 근육내 1ml씩 접종하였다. 백신접종후 임상관찰을 하면서 14일에 각군마다, 임의로 선정하여 회사계사에 옮긴후 채혈하여 혈청가를 측정하고 공격독으로는 교정원주 10^4 EID50/수당을 근육내 접종하고 2주동안 임상관찰하였다.

관찰한 결과 야외에서도 병원성이나 접종 반응은 전혀 볼수 없었으며 식욕감퇴나 2차적인 어떠한 발병도 유발하지 않았다. 표 5와 같이 라소백신구의 평균 혈청역가는 260배이었고, 뉴캐슬병 사독백신구의 평균 혈청역가는 180배로서 라소백신구의 혈청역가가 월등히 더 높다. 한편 공격독에 대한 방어력은 양자모두 100%의 방어력을 유지하였다.

IV. 고 찰

뉴캐슬병 라소타주를 사용하여 시험백신을 생산한 후 자가검정을 실시하고 나아가서는 효력 및 병원성을 조사하였으며 또 B₂백신 및 뉴캐슬병사독백신 등의 비교시험을 실시하였다. 라소타주를 이용한 음수백신은 구미각국에서는 오래전부터 사용되어 왔으며 우리나라에서도 양계규모가 기업화됨에 따라 기존 백신인 B₂주를 사용한 음수백신을 많이 사용하고 있으며, 음수백신으로는, 역가가 더 높은 라소타주를 이용한 백신이 시급히 요망되고 있다. 본시험에서 사용된 라소타주는 B₂주 및 F주, V4주 등과 같이 다같은 약독주로서 이를 이용한 라소백신은 병원성이 인정되지 않았고 혼입바이러스도 검출되지 않았으며 계태아에 대한 감염역가도 $10^{7.4}$ EID₅₀/수당으로서 백신으로 사용할 수 있는 충분한 양이 함유되어 있었으며 닭에 대한 혈청역가와 방어력도 우수하였다. 본 시험에서 B₂생독에 방약과 라소타생독에 방약의 닭에 대한 비교시험은 라소타주가 B₂주보다 혈청역가와 방어력이 월등히 높다는 것은 Winter field 氏 등의 성적과 흡사하였다.

라소백신의 야외접종 시험에서는 병원성이 전혀 없었고 호흡기 장애나 식욕감퇴 등 임상상의 이상이 인정되지 않았으며 혈청역가와 방어력도 우수하였다. 라소백신이 건강한 초생추에 대해서는 이상 시험성과 같이 아무런 이상이 없었으나 B₂주나 라소타주는 다같은 약독주로서 계태아에 대한 평균치사 시간과 1일령추에 대한 뇌내 병원성 지수가 B₂주보다 라소타주가 약간 높다는 점에서 건강하지 못한 초생추에서는 약간의 반응이 있을 수도 있는 것 같이 여겨지며 초생추에 접종시 1차로 B₂생독백신을 사용하고 2차나 3차 접종시에 라소백신을 접종하는 것이 방역상 효과적일 것이다. 성계에 생독백신을 접종하고 이차에 B₂생독백신과 사독백신을 각각 접종한 결과 생독백신을 접

종한 구는 사독백신을 접종한 구보다 혈청역가나 방어력이 더 우수하다는 것은 본시험과 흡사하며 따라서 면역지속기간도 오래 지속되었다. 중추나 성계에 있어서도 개란성 전염병이 없는 S.P.F.란을 사용한 라소타주로 백신을 생산하여 사용한다면 사독백신보다 시간과 노력이 적게 들며 사용에 편리하고 또 역가도 높아서 방역에 효과가 클 것이며, 접종시 근육주사로 오는 스트레스 등을 극소화시킬 수 있고 인력의 낭비를 줄일 수 있어 경제적 효과도 클 것으로 사료된다.

V. 적 요

1. 라소백신은 혼입바이러스도 검출되지 않았고 초생추에 대한 병원성이나 호흡기 장애 및 식욕감퇴 등 임상상 하등의 이상이 없고
2. 라소백신의 계태아에 감염역가는 $10^{7.4}$ EID₅₀/수당 이었으며 37°C에서 5일간 보존한 것은 $10^{6.3}$ EID₅₀/수당으로 한단계 떨어졌다.
3. 라소백신의 음수법으로 4주령추에 접종후 평균혈청역가는 384배 였고 방어력도 100%이었다.
4. 라소백신과 B₂백신을 4주령추에 음수접종을 한후 혈청역가와 방어력의 비교시험은 라소다백신의 평균혈청역가는 430배 이었고 B₂생독백신의 평균혈청역가는 130 배로 라소백신의 혈청역가가 더 높았으며 한편 공격독에 대한 방어력은 양자 모두 100%이며
5. 라소백신의 3주령추에 야외 접종반응 및 방어력 조사는 병원성이 전혀 인정되지 않았고 호흡기 장애나 식욕감퇴 등 2차적인 발병을 유발 하지 않았으며 평균 혈청역가는 275배 였고 방어력도 100% 이었다.
6. 라소백신과 뉴캐슬사독 백신의 성계에 대한 야외시험 비교는 관찰결과 야외에서도 병원성이나, 접종반응 및, 2차적인 어떠한 발병도 유발하지 않았고 라소백신의 평균혈청역가는 260배 이었고, 사독백신의 평균혈청역가는 180배로서 라소백신이 더 높았다. 한편 공격독에 대한 방어력은 모두 100%였다.