

닭 전염성 후두기관염 백신효과 연구

최해연, 정운선, 유기조

충청북도가축위생시험소 북부지소

Studies on the Efficacy of Infectious Laryngotracheitis Vaccine

Hae-Yeun Choi, Un-Sun Joung, Kee-Cho Yoo

Northern Branch of Chung-Buk Veterinary Service Laboratory

Abstract

To evaluate the pathogenesis of live infectious laryngotracheitis vaccine, virus, virus and E.coli were inoculated in 4-weeks old intraorbitally and intraorally. Their pathology and serology were studied. The results were as follows.

1. Chicks inoculated with ILT vaccine alone showed no clinical sign.
2. Some of chicks inoculated with ILT vaccine followed by E.coli after 1day showed nasal discharge and cough.
3. Some of chicks inoculated with E.coli followed by ILT vaccine after 1 day and inoculated ILT vaccine and E.coli concurrently, showed nasal discharge.
4. Serum neutralization titers of chicks inoculated with ILT vaccine increased 3 weeks after inoculation, peaked at 7 to 8 weeks and decreased.
5. Antibiotic sensitivity of E.coli were higher in Enrofloxacin(Baytril) and chloramphenical.

Key words : ILT vaccine, E.coli, clinical sign.

서 론

닭 전염성 후두기관염(Avian Infectious Laryngotracheitis : ILT)은 호흡기 증상을 주증으로 하는 닭의 전염성 질병으로 후두부와 기관 점막의 염증을 일으키는 질병이다.^{1, 2, 3, 4)}

ILT바이러스는 Herpes virus로 45~85m μ 의 크기이며, 1,000~1,500Å의 envelope를 지니며 형태가 icosahedral체로서 roughly spherical형태인 DNA바이러스이며 핵내 봉입체를 형성한다.^{1, 2, 3)}

ILT바이러스는 1925년 May와 Tittsler가 처음 보고한 이래 캐나다, 영국, 호주 등의 국가에서 1930년 부터 발생하여 피해를 보였으며 1960년대와 1970년대에 가까운 일본에서도 큰 피해를 본 바 있다.

우리나라에서도 1982년 3월 강화도에서 심급성형의 ILT가 발생된 이래 약 3개월 동안 전국에 만연되어 양계산업에 큰 피해를 주었던 것이다.

본병은 일령의 관계없이 발생하며 산란계의 경우 급성시에 100% 발병 30~50%의 폐사율을 나타내며 산란율은 20~40%가 떨어지고 양계산업의 대형화, 밀집화로 더욱더 발병 규모가 커지는 추세에 있고 또한 계사의 구조, 위생상태 등에 따라 폐사율, 산란율의 차이가 심하고 대추가 성계보다 피해가 크며 평사가 케이지보다 피해율이 높은 것으로 알려져 있다.

ILT바이러스는 병원성이 강한 것과 약한 것으로 구분되며 눈에 감염력이 있는 것과 기관에 친화성이 있는 것 등으로 구분된다.

ILT에 대한 연구는 세계 여러 연구자에 의한 연구가 수행되었고^{1~7)} 우리나라에서도 많은 사람들에 의해 연구되었으나^{8~10)} ILT바이러스의 예방백신접종 연구에 대한 기초 자료가 부족한 실정이다.

본 논문에서는 시중 유통되고 있는 백신 및 백신과 대장균을 시험 닭에 접종한 후 병원성상 및

혈중항체가의 변동에 대한 일련의 실험을 수행하여 몇가지 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

바이러스

독립자 수의약품에서 분양한 ILT 바이러스를 사용하였다.

중화시험용 바이러스 증식

9~11일령의 부화란에 난각을 옥도정기와 알콜로 소독한후 인공기실을 만들고 ILT바이러스를 장노막에 0.1ml접종하여 인큐베이터에 37°에서 5일간 배양한 후 장노막의 포크 부분을 수거하여 3,000rpm에 20분간 원심한후 상층액을 -80°에서 보관하면서 항원으로 사용하였다.

시험용 세포증식

계태아 간세포를 사용하였고 세포배양액은 Eagle's minimum essential medium(Gibco, USA : EMEM)에 우태아혈청(Gibco, USA)를 시험목적에 따라 10% 되게 하고 Penicillin(200 IU/ml), Streptomycin sulfate(200 μ l/ml) kanamycin(20 μ l/ml) 및 fungizone(20 μ l/ml)을 첨가하여 사용하였다.

혈청중화시험

혈청중화시험은 Toshiro Izuchi 등⁷⁾ 방법을 응용하였다. 약술하면 마이크로푸레이트(Costar 96 well tissue culture)에 계태아 간세포를 배양하였고, 혈청을 EMEM 배지로 2배 계단 희석하여 0.025ml에 ILT바이러스 100TCID₅₀ 0.025ml를 넣고 37°에서 1시간 감작한후 단층이 형성된 마이크로푸레이트의 배양액을 제거후 바이러스와 혈청 혼합액을 0.025ml 분주하고 10% 우태아혈청이 첨가된 EMEM 배지를 넣은 후 CO₂ 인큐베이터 37°에서 5일간 세포번성효과를 관찰하였다.

실험 계 접종

임상적으로 건강한 3주령의 시험계 200수를 구입하여 시판용 양계사료를 급여하면서 사육하였고 실험계는 1주일 동안 구충제를 투여하면서 건강 상태를 재 확인한 후 1, 2, 3, 4, 5의 5개군으로 나누어 다음과 같이 실시하였다.

1군의 40수에 대하여는 ILT 백신을 0.03ml 씩 안와로 단독 접종하였고, 2군의 40수에 대해서는 ILT 백신 0.03ml를 안와 접종 1일후 병원성 대장균(O149 : K91 : H10)을 0.03ml 경구 접종하였고 3군의 40수에 대하여는 병원성 대장균 0.03ml를 경구 접종한 1일 후에 ILT 백신 0.03ml을 안와 접종하였으며, 4군 40수는 ILT 백신 0.03ml와 병원성 대장균 0.03ml을 동시 안와와 경구 접종하였으며, 5군 40수는 대조군으로서 PBS 0.03ml를 안와, 경구로 접종하였다.

임상병리학적 검사

ILT접종계에 대해 통상적인 방법에 준하여 임

상증상관찰 및 총백혈구수 측정 시험을 수행하였으며 폐사계에 대하여는 병리학적 부검도 실시하였다.

결 과

임상병리학적 관찰

ILT 백신을 30ul 안검에 접종한 1군(40수), ILT 백신접종 1일후 대장균을 접종한 2군(40수), 병원성 대장균 접종 1일후 ILT 접종한 3군(40수), ILT 백신과 대장균을 동시 접종한 4군(40수)에 대하여 임상증상을 관찰한 바 1군에서는 ILT바이러스 접종후 별다른 증상을 보이지 않았으나 2군의 일부계에서 호흡기 증상인 콧물 및 기침의 증상이 있었고 3군과 4군의 일부계에서는 콧물 증상만이 관찰되었으며(표1), 2군에서 4수, 3군에서 1수, 4군에서 2수 총 7수의 폐사가 있었다.

Table 1. Major clinical signs of the chicks experimentally inoculated with ILT vaccine and E. coli.

Group	Dosage of ILT virus		Dosage of E.coli.		Clinical sign		Days of the inoculation						
					Nasal discharge	Cough	1	2	3	4	5	6	7
1	0.03ml		-		-	-	-/-*	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
2	1st	0.03ml	2nd	0.03ml	+	+	-/-	+/-	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-
3	2nd	0.03m	1st	0.03ml	+	-	-/-	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-
4		0.03ml	and	0.03ml	+	-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-
5(control)		-		-	-	-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-

*nasal discharge/cough

총백혈구수는 접종후 4일부터 7일까지 증가 추세를 보이다가 점차 감소하였으며(그림1) 적혈구수는 4일부터 다소 감소하다가 서서히 증가하는 추세를 보였다.(그림2)

혈청중 ILT 중화항체가

ILT 백신 접종 실험계군의 항체형성 수준을 중화시험으로 검사한 바 1군은 접종후 3주에 증

가하여 3.1 ± 0.3 이었고, 7주에 최고치에 달하여 3.4 ± 0.2 이였으며, 반면 2군은 접종 3주에 3.1 ± 0.4 , 8주에 최고치인 3.4 ± 0.1 이였으며, 3군은 접종 3주에 3.2 ± 0.2 , 7수에 3.4 ± 0.1 , 4군은 접종 3주에 3.1 ± 0.3 , 7주에 3.4 ± 0.1 이여서 4군 공히 3주부터 중화항체가가 증가하여 7~8주에 최고 수준에 이르렀다가 서서히 감소하는 경향을 보였다(표2).

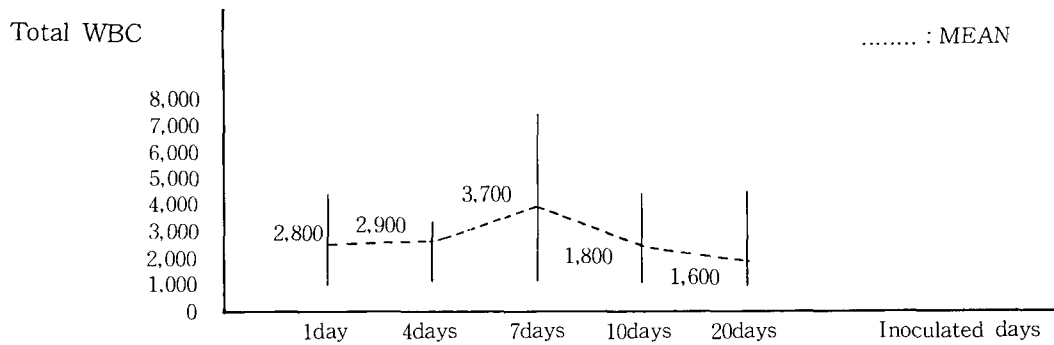


Fig. 1) Total WBC response of chicks experimentally inoculated with ILT vaccine.

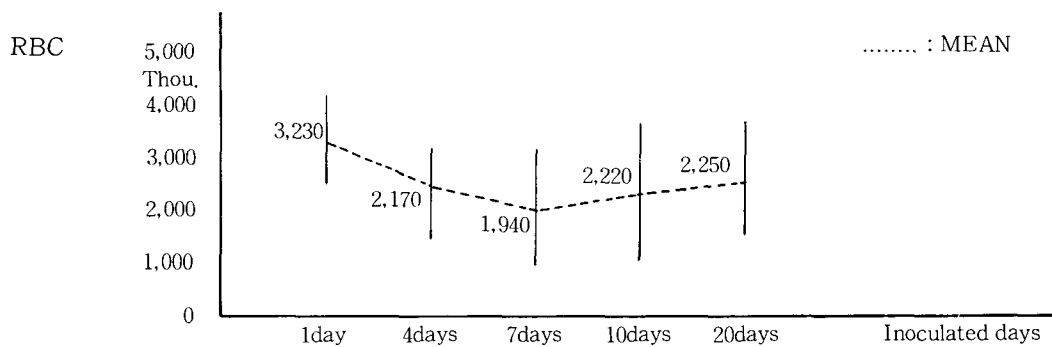


Fig. 2) RBC response of chicks experimentally inoculated with ILT vaccine.

Table 2. Serological S.N response of chicks experimentally inoculated with ILT vaccine

Group	No. of chicks	Dosage of virus inoculated	Weeks after inoculation							
			3	4	5	6	7	8	9	10
1	10	0.03ml	3.1±0.3	3.2±0.4	3.1±0.2	3.3±0.3	3.4±0.2	3.3±0.1	3.1±0.2	3.0±0.1
2	10	0.03ml	3.1±0.4	3.1±0.3	3.2±0.3	3.2±0.3	3.3±0.2	3.4±0.1	3.2±0.2	3.0±0.2
3	10	0.03ml	3.2±0.2	3.2±0.3	3.1±0.2	3.3±0.2	3.4±0.1	3.2±0.2	3.1±0.2	2.9±0.2
4	10	0.03ml	3.1±0.3	3.2±0.3	3.2±0.3	3.3±0.3	3.4±0.1	3.3±0.2	3.3±0.1	3.0±0.2
5	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-

분리 대장균의 항생제 감수성 검사

ILT백신과 혼합감염 시킨 대장균의 항생제 감수성 결과는 대장균 분리주1(045, K87, F65, K88ab), 대장균 분리주2(0149, K91, H10, K88ab), 대장균 분리주3(0157, H19, K88ac (L)), 3주 공히 바이트릴, 크로람페니콜에 감수성이 높았으며 젠타마이신, 가나마이신, 네오마

이신에는 감수성이 있었고 기타 항생제는 감수성이 없었다.(표3)

고 찰

우리나라에서 ILT바이러스는 닭에서 피해가 큰 중요한 전염병으로 간주되어 있고 또한 1982

Table 3. Drug susceptibility of E. coli isolated.

Antibiotics	Isolated E. coli		
	1*	2**	3***
Baytril	++	++	++
chloramphenicol	++	++	++
Gentamicin	+	+	+
Kanamycin	+	+	+
Neomycin	+	+	+
Ampicillin	-	-	-
cephalothin	-	-	-
Penicillin	-	-	-
Nitrofurantoin	-	-	-
Streptomycin	-	-	-
Sulfonamides	-	-	-
Tetracycline	-	-	-
Collistin	-	-	-
Lincomycin	-	-	-

* 1 : 045, K87, F65, K88ab

** 2 : 0149, K91, H10, K88ab

*** 3 : 0157, H19, K88ac(L)

년 강화도에서 발생한 이래 전국에 만연되어 커다란 피해를 보았으나 다행스럽게도 최근들어서는 ILT에 의한 피해는 현저히 적어져서 양계농가들에게 다소 위안이 되는 일이나 ILT 백신 투여로 인한 피해가 있어서 본 연구를 수행한 바 ILT 백신을 단독 투여한 계군은 이상이 없었으나 1차 ILT 백신을 투여하고 2차 대장균을 투여한 계군은 콧물 및 기침의 증상이 있었고, 1차 대장균 투여 2차 ILT 백신을 투여한 계군 및 ILT 백신 및 대장균을 혼합 투여한 계군에서는 공히 콧물의 증상이 있었다. 이는 ILT 백신과 대장균을 혼합 접종한 계군에서는 대장균감염으로 인하여 호흡기 증상을 일으키는 것으로 사료된다.

총백혈구수는 접종 4일부터 7일까지 증가하다가 점점 감소하는데 이는 초기에 질병감염으로 인하여 백혈구수가 증가하였으나 7일부터는 ILT백신 감염증의 증상으로 인하여 감소되는 것

으로 생각되며 적혈구수는 초기에 감소하다가 서서히 증가하였는데 이는 백신 반응으로 인한 것으로 사료된다.

실험계군의 혈청 중화시험은 백신접종 3주 부터 서서히 증가하여 7주~8주에 최고의 중화 항체 역가인 3.4 ± 0.2 를 유지하였는데 이는 S. Barhoom과 Anna Forgacs등⁶⁾ 및 임등¹¹⁾ 이 연구한 시험과 거의 일치하는 소견을 보였다.

실험계군의 분리 대장균의 항생제 감수성 검사 결과는 바이트릴, 크로람페니콜 등의 항생제가 높은 감수성이었고, 겐타마이신, 가나마이신, 네오마이신 등은 비교적 높았으며 기타 항생제는 감수성이 낮았다.

결 론

국내에서 생산되는 ILT백신을 실험계에 대한 병인학적 특성을 구명하기 위하여 ILT 백신 및 대장균을 4주령된 실험계에 안와 및 구강으로 인공접종 시킨 후 그 임상병리학적 및 바이러스학적 측면에서 일련의 실험을 수행한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. ILT백신을 단독 접종한 실험계군은 정상이었다.

2. ILT백신 접종 1일 후 대장균을 접종한 실험계군의 일부에서 콧물 및 기침 증상이 있었다.

3. 대장균 접종 1일 후 ILT 백신을 접종한 실험계군 및 대장균과 ILT 백신을 동시 접종한 실험계군의 일부에서는 콧물의 증상이 있었다.

4. ILT백신 계군의 혈청 중화 역가는 접종 3주 부터 증가하다가 7~8주에 최고의 수준에 이르렀다가 서서히 감소하였다.

5. 분리 대장균의 항생제 감수성 검사는 바이트릴과 크로람페니콜의 감수성이 가장 높았다.

이상과 같은 결론으로 ILT 백신접종은 반드시 깨끗한 계사 사육환경하에서 실시하여야만 가장 좋은 면역효과를 얻을 수 있다고 사료되었다.

참 고 문 헌

1. John FT, James HG, Fredric WS, et al. 1988. Hagan and Bruner's microbiology and infections diseases of domestic animals, 8th ed. Comstock publishing Asso : 628-632.
2. Calnek BW, John Barnes H, Beard CW, et al. 1991. Diseases of poultry. 9th ed. Iowa State Univ press. Ames, Iowa, USA : 485-495.
3. 農林省 家畜衛生試驗場. 1978. 原色. ニワトの病氣 : 72-76.
4. Otto HS, Clarence MF, James A. et al. 1979. The Merck veterinary manual. 5th ed. Merck and Co. Inc Rahway, New Jersey, USA : 1103-1104
5. Caroly SH, RC Jones. 1988. Comparison of cultural methods for prilmary isolation of infectious laryngotracheitis virus from field material. Avian pathology. 17 : 295-303.
6. Barhoom S, Forgacs A, Solyom F. 1986. Development of an inactivated vaccine against Infectious Laryngotracheitis(ILT) – Serological and protection studies. Avian pathology. 15 : 213-221.
7. Toshiro I, Akira H, Takeshi M. 1982. Studies on a live virus vaccine against Infectious laryngotracheitis of chickens. I. Biological properties of attenuated strain C 7. Avian diseases. 27(4) 918-926.
8. 최정옥, 김재홍, 권준현 등. 1983. 전염성 후두 기관염에 관한 연구 : 전염성 후두기관염 바이러스(ILTV) 성장 및 면역에 관한 연구. 가축위생연구소. 시험연구보고서 : 253-272.
9. 최정옥, 김재홍, 권준현 등. 1983. 전염성 후두 기관염 백신접종 방법 개선에 관한 연구. 가축위생연구소. 시험연구보고서 : 222-225.
10. 김선중, 김재홍, 이영옥 등. 1986. 전염성 후두 기관염에 관한 연구 : 전염성 후두기관염 사독 백신 개발에 관한 연구. 가축위생연구소. 시험연구보고서 : 204-206
11. 임경숙, 위성하, 최정옥 등. 1992. 효소 면역법에 의한 닭 전염성 후두기관염 바이러스 항체측정에 관한 연구. 가축위생학회지. 15(1) : 32-45.