

오골계의 뉴캐슬바이러스 면역원성 조사

이종훈, 김영진, 정영균, 정영재

충청남도 보건환경연구원 부여지소

Studies on the immunization against Newcastle disease virus in Ogol chicken

Jong-Hoon Lee, Young-Jin Kim, Young-Kyun Jung, Young-Jae Jung

*Puyeo-branch of the Chungnam
Public Health & Environmental Research Institute*

Abstract

This study was conducted to determine whether the vaccination programs for the control of Newcastle disease(ND) would affect the immune status of *Ogol* chicken in Yeonsan, Chungnam province. The results obtained are summarized as follows :

1. Maternal antibody titers level of *Ogol* chickens was 2 log₂.
2. The efficacy of the Newcastle spray and drinking water vaccine was evaluated by the antibody responses and the protection rates(over 90%) after challenge with a virulent *Newcastle disease virus* at 14 days.
3. Spray vaccine caused no visible side reaction like respiratory symptoms, but it is declined of the 4~5 days

Key words : Newcastle disease, *Ogol* chicken, Spray vaccine, Antibody titer

서 론

서양이나 일본에서 사육되고 있는 오골계는 絹絲羽鷄(Silky종)라 하여 羽毛가 絹絲羽이고 발가락이 5趾인 것이 특징이다. 그러나 연산오골계는 정상우모, 4趾에 烏骨이므로 축산학적인 측면에서 뚜렷한 차이점이 있고 약용계로 옛날부터 사육되어 왔으며 품종 보존의 측면에서 천연기념물 265호로 지정 보호하고 있다¹⁾.

뉴캐슬병(Newcastle disease : ND)은 조류의 급성전염병으로서 거의 모든 조류에 감염되며, 특히 닭, 메추리, 꿩에서는 심한 호흡기, 소화기, 신경증상과 높은 폐사율을 나타내는 악성 전염병이다²⁾.

뉴캐슬병은 영국의 Newcastle 지방에서 1926년 Doyle³⁾에 의해서 처음으로 발생보고 되었으며, 같은 해 Java와 우리나라에서도 발생된 이래^{4,5)} 오늘에 이르기까지 세계적으로 널리 발생되어 광범위한 피해를 나타내고 있다.

뉴캐슬병을 예방하기 위해서 생바이러스 백신과 사바이러스 백신이 효과적으로 이용되어 왔으며^{6,7)} 생독백신의 접종효과를 높이기 위해 비강, 점안, 음수, 분무를 비롯하여 여러 방법들이 연구, 개발되어 왔다^{8,9)}.

비강접종법이나 점안접종법은 면역효과는 좋으나 시술방법에 있어서 개체별로 일일이 접종해야 한다는 결점 때문에 인력난으로 인해 점점 기피되고, 대신 일시에 대량 접종이 가능한 음수접종법이나 분무접종법이 널리 사용되고 있는 추세이다⁹⁾.

따라서 천연기념물인 오골계에 대하여서도 항체가 조사 및 백신 접종법을 조사하였다.

재료 및 방법

공시 동물

충청남도 논산시 연산면 화악리 소재 연산오골계 농장에서 초생추 170수를 분양받아 시판용 양계사료를 급여하면서 본 시험에 공하였다.

NDV백신 및 공격바이러스

뉴캐슬병 바이러스(*Newcastle disease virus* : NDV) 백신은 Hitchner B₁, LaSota, VG주를 사용하여 제조한 제품을 구입, 1% skim milk를 함유한 1차 증류수에 적정농도로 희석 사용하였다. 공격접종용 바이러스로는 NDV 강독 교정원주를 공시하였고 역가는 수당 $10^{6.2}$ EID₅₀(50 % egg infective dose)로 2주령 오골계에 0.5ml 경구접종하였다.

백신접종

분무접종은 Turbair Mini-Flydowner(Spinning disc type, Turbair LTD, 영국) 분무기를 사용하였다. 병아리를 약 60×65×80cm 크기의 상자에 넣은 후, 준비된 백신을 100ml의 희석액에 타서 입자의 크기를 100~120μm되게 조정하여 약 3분 동안 분무 접종하였다.

음수접종은 1일 음수량을 일령×1ml로 계산하여 백신을 그 1/3량에 희석한 후 투여하였다. 음수접종전 3~4시간 동안 절수시켰다.

혈구응집억제 반응

NDV에 대한 항체가 측정은 U형 96 well microplate를 사용하여 혈구응집억제반응법(HI test)으로 실시하였으며¹⁰⁾, 항원과 혈청의 희석은 phosphate buffer soultion(PBS, pH 7.2)을 사용하였다. 항원농도는 4HA units, 닭 적혈구농도는 1%로 하였다.

시험계군 항체가 측정

1군은 B₁, LaSota, VG주의 백신을 각각 20수씩 1일령에 분무접종하였고 2군은 동일 군주의 백신을 사용 각각 20수씩 1일령에 1차 분무접종 후 1주령에 2차 음수접종을 하였다. 3군은 20수에 B₁주의 백신으로 1일령과 1주령 및 2주령에 음수접종을 실시하였다. 한편 대조군 5수는 백신접종 하지 않았다. 항체가 측정은 5일 간격으로 심장 및 익화정맥에서 채혈하여 실시하였다.

공격접종

NDV VG주를 사용하여 1일령 분무접종(오골계 15수), 1일령 분무 및 1주령 음수접종(오골계 18수), 1일령 및 1주령 음수접종(오골계 18수)하였으며, 2주령에 공격접종 한 후 7일 동안 접종반응과 폐사 유무를 개체별로 관찰하였다.

농장항체가 조사

'98. 4월부터 10월까지 연산면 화악리에서 사육하고 있는 연산오골계에 대하여 계군별로 채혈하여 NDV 항체가를 측정하였다.

결과 및 고찰

농장의 NDV 항체가 추이

논산시 연산면 화악리에 위치한 연산오골계 농장의 오골계 NDV 항체가 추이는 HI 역가(log₂)로 표기하였으며 Fig 1에 나타낸 바와 같았다.

1일령 모체이행항체의 HI역가는 1.8 ± 0.3 이며 1주령에는 0.2 ± 0.4 로서 가장 낮은 수준을 나타냈다. 3주령에서는 4.6 ± 0.3 를 보였으며 8주령까지는 서서히 감소 추세로 2.8 ± 0.7 를 보이다가 16주령에서는 5.5 ± 1.1 로 높았다. 농장에서 백신접종 프로그램은 7일령, 14일령에 각각 B₁백신을, 56일령에 oil백신을 접종하고 있었다.

ND 예방을 위한 항체가 최저기준을 HI 역가 3.0로 볼 때¹¹⁾, 1일령에서 2주령까지는 NDV의 감염을 방어할 수 없는 시기로 인정되며, 농장에서의 백신 접종프로그램이 일부 조정될 필요가 있음을 확인하였다.

NDV 백신접종 항체가

NDV B₁, LaSota, VG주의 백신을 1일령 분무접종군 및 1일령 분무접종 후 1주령 음수접종군과 B₁주의 백신을 1일령, 1주령 및 2주령에 각각 음수접종 한 군에 대하여 각각의 항체가를 측정한 결과는 Table 1과 같았다.

1일령 분무접종군에서 B₁, VG주는 10일령에 HI항체가가 각각 4.1 ± 0.5 , 4.4 ± 0.6 를 보이면서 20일령까지 지속되었다. 그러나 LaSota주는 20일령에 4.1 ± 0.7 의 HI항체가를 보였다. 1일령 분무접종 후 1주령 음수접종군에서 B₁주는 10일령에 HI항체가 4.3 ± 0.4 , 15일령 6.8 ± 0.9 , 20일령 7.9 ± 1.1 를 보였으며, 특히 25일령에는 8.2 ± 0.4 를 보여 항체가가 최고에 달하였다. 한편 LaSota 및 VG주도 이와 유사한 결과를 보였다.

1일령과 1주령 및 2주령 음수접종군(B₁주)에서는 15일령에 4.3 ± 0.5 , 20일령에 5.2 ± 0.4 , 25일령에 4.3 ± 0.4 의 HI 역가를 보였다.

분무접종시 분무입자의 크기^{6,12)}, 희석액 종류와 사용된 물¹²⁾, 백신바이러스의 종류와 농도¹³⁾, 백신접종 당시의 온도와 상대습도⁶⁾에 따라 그 효과에 크게 차이가 있음이 이미 보고된 바 있다. 그러나 분무접종법은 비강, 점안, 음수접종법 등에 비해 접종이 용이하고, 면역발현이 빠르며 효과가 우수한 것으로 알려져 있다¹⁴⁾.

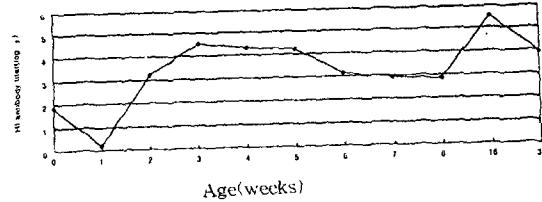


Fig. 1. Changes of serum antibody titers against Newcastle disease virus in Yeon-san Ogo chickens Farm

본 실험에서도 음수접종군보다 분무접종군에서 항체 형성이 빨랐으며, 더구나 분무 후 음수접종군에서는 10일령 이후 역가가 4.3 ± 0.4 이상 지속되어 우수한 효과를 보임으로서 Partadiredja 등¹⁴⁾의 보고와 일치하였다. 그러나 분무 접종군에서 균주별 항체가 형성의 유의성은 크게 없어 Gough와 Allan¹⁵⁾이 보고 한 내용과는 차이점을 나타내었다.

NDV 백신접종에 의한 방어효과

B₁주를 이용 1일령 분무접종군 및 1일령 분

Table 1. HI antibody titers of Ogol chickens vaccinated with NDV vaccine

Age at vaccination	Strain	No of inocula-	inocula-	Ages(days)							
				1	5	10	15	20	25		
Spray	B ₁	20	—*	2.8±0.6**	4.1±0.5	4.0±0.4	4.2±0.3	3.8±0.3	3.1±0.2		
	LaSota	20	—	2.2±0.9	2.8±0.4	3.6±0.7	4.1±0.7	3.7±0.5	3.8±0.9		
	VG	20	—	3.5±0.8	4.4±0.6	4.1±0.3	4.1±0.4	3.8±0.9	3.9±0.8		
Spray Dw***	B ₁	20	—	2.8±0.6	4.3±0.4	6.8±0.9	7.9±1.1	8.2±0.4	6.8±0.6		
	LaSota	20	—	2.2±0.9	4.8±0.3	6.4±0.5	7.8±0.4	7.5±1.5	7.3±0.7		
	VG	20	—	3.5±0.8	4.7±0.7	7.3±0.7	8.0±0.9	8.1±0.7	7.6±0.5		
Dw	Dw	Dw	B ₁	20	1.9±0.8	2.3±0.5	2.2±0.4	4.3±0.5	5.2±0.4	4.3±0.4	4.4±1.0
Unvaccinated	control			5	1.8±0.9	0.2±0.2	0	0	0	0	0

* Not tested, ** mean± S.D(HI log₂)

***Drinking water vaccination

Table 2. Protectivity of Kyojeongwon strain of the Ogol chickens vaccinated with NDV B1

Age at vaccination	Challenge*	reuslt	Days after inoculation						
			1	2	3	4	5	6	7
Spray	—	4/15(73)**	4***	8	3(2) ^e	1(1)	0(1)	0	0
Spray	Dw	1/18(94)	3	2	1	0(1)	0	0	0
Dw	Dw	8/18(56)	13	16	14(1)	11(3)	5(4)	3	0
Unvaccinated	control	13/13(0)	12	13	13(11)	0(2)	0	0	0

* Each group were given orally by 10^{6.2}EID50/0.2ml in two-weeks old chickens

** No of the dead/ No of the challenged (% protection)

*** Number of chickens with clinical signs(Listlessness, gasping, prostration)

@ Number in () is number of deads

무 후 1주령 음수접종군과 1일령과 1주령 음수접종군으로 구분하여 2주령에 NDV 강독주교정원주를 공격접종하여 방어효과를 관찰한 결과는 Table 2와 같다.

1일령 분무접종군에서는 접종 15수 중 4수가 폐사되어 73%의 방어율을 보였으며 접종 후 1일부터 침울, 사료섭취 저하가 관찰되었고 3일에는 다리 및 날개의 마비, 규칙적인 경련, 혼수 등의 증상을 보였다. 1일령 분무 후 1주령 음수접종군에서는 접종 18수 중 1수가 폐사되어 94%의 높은 방어율을 보였으며, 대부분 경미한 침울 증상만을 보였다. 한편 1일령 및 1주령 음수접종군에서는 접종 18수 중 8수가 폐사되어 56%의 방어효과를 보였다.

백신접종반응

1일령에 NDV VG주를 오골계 10수씩 분무 및 음수접종 한 후 임상증상을 관찰 한 결과는 Table 3과 같다.

분무접종군에서는 1일령, 3일령, 5일령에 각각 4수, 3수, 1수의 호흡기 접종반응을 나타낸 반면, 음수접종군은 1일령에 1수만이 접종반응을 보여, 음수접종 보다 분무 접종으로 인한 호흡기 반응이 훨씬 심하게 나타남을 알 수 있었다.

분무접종법은 분무입자의 크기에 따라 10~100μm의 coarse spray와 1μm이하부터 50μm 크기까지의 aerosol로 구분된다. 후자는 전자에 비하여 분무입자가 폐 깊숙히까지 도달하기

때문에 백신접종으로 인한 호흡기 접종반응이 심하게 나타나는 것으로 알려져 있다⁶⁾. 또한 마이코플라즈마나 대장균의 오염이 심한 경우, 예상보다 훨씬 심각하게 나타날 수 있기 때문에, 백신접종 반응을 줄이기 위해서는 분무입자별 접종반응 및 세균검사등의 추가 시험이 요구되었다.

Table 3. Vaccinal respiratory reaction following ND VG vaccine of Ogol chicks

Vaccination	Days post-vaccination			
	1	3	5	7
Spray	4/10*	3/10	1/10	0/10
Dw	1/10	0/10	0/10	0/10
Control	0/5	0/5	0/5	0/5

* No of chicks showing rale's sound or coughing/No of tested chicks

Dw : drinking water vaccination

결 론

연산오골계에 대한 뉴캣슬병의 효과적인 예방 대책을 수립하고자 농장에서의 항체가 조사 및 백신 접종 경로에 따른 면역효과 측정 결과를 요약하면 다음과 같다.

- 연산오골계 농장의 초생추 모체이행항체 역가(HI)는 $2 \log_2$ 로서 낮은 수준을 나타냈다.
- 백신 접종시험에서 1일령 분무 후 7일령 음수접종군에서 가장 높고 고른 항체가 ($8 \log_2$)를 보였으며 25일령 이후까지 지속되었다.
- 분무접종군에서 경미한 호흡기 반응(호흡음, 기침등)을 보였으나 4~5일 후에 소실되었다.

이상의 결과로 볼 때 뉴캣슬병 백신의 분무 및 음수접종법을 병행하여 실시하면 초기(2주령 이하) 뉴캣슬병 감염을 예방하는데 도움이 될 것으로 사료되었다.

참고문헌

1. Han SW. 1996. Present status of research and commercial production of Korean ogol chicken. *Korean J Poult Sci* 23(3) : 145~151.
2. Alexander DJ. 1991. Newcastle disease and other paramyxoviruses infections. In : *Diseases of poultry*, 9 ed : 469~519.
3. Doyle TM. 1927. A hither to unrecorded disease of fowls due to a filterpassing virus. *J Comp Pathol Therap* 40 : 144~169.
4. Mohanty SB, Dutta SK. 1981. *Veterinary virology*. Philadelphia : Lea & Febiger : 267~270.
5. 박근식. 1979. 뉴캣슬병 바이러스 연구사. 가금학회보 6(2) : 57~73.
6. Allan WH, Lancaster JE, Toth B. 1978. Newcastle disease vaccines. *Their production and use*. FAO press, Rome, Italy : 93~108.
7. Gianbrone JJ, Closser J. 1990. Effect of breeder vaccination on immunization of progeny against Newcastle disease. *Avian Dis* 34 : 114~119.
8. Gough RE, Alexander DJ. 1973. The speed of resistance to challenge induced in chickens vaccinated by different routes with a B1 strain of live Newcastle disease virus. *Vet Rec* 92 : 563~564.
9. Hayter RB, Besch EL. 1974. Air-borne particle deposition in the respiratory tract of chickens. *Poul Sci* 53 : 1507~1511.
10. Allan WH, Gough RE. 1974. A standard haemagglutination inhibition test for Newcastle disease(1) A comparison of macro and micro methods. *Vet Rec* 95 : 120~123.
11. Kim JH, Song CS. 1992. Consideration of cause of recent severe outbreaks of Newcastle disease in Korea and a brief review of virological differences, serological diagnosis and administration of a vaccine.

- Korean J Poul Sci* 19(2) : 65~76.
- 12. Yadin H. 1981. Aerosol vaccination against Newcastle disease : factors affecting the serological response in chickens *Avian Path* 10 : 329~341.
 - 13. Gough RE and Allan WH. 1974. The potential as an aerosol vaccine of Ulster 2C strain, Newcastle disease virus. *Bet Rec* 95 : 263~265.
 - 14. Partadiredja M, Eidson CS, Kleven SH. 1979. A comparison of immune responses of broiler chickens to different methods of vaccination against Newcastle disease. *Avian Dis* 23(3) : 622~633.