

오리 간염 바이러스의 분리와 국내 분리주의 약독화

성 환 우 · 김 재 흥

국립수의과학검역원
(2000년 2월 16일 접수)

Isolation of duck hepatitis virus and it's attenuation in chicken embryos

Haan-woo Sung, Jae-hong Kim

National Veterinary Research and Quarantine Service, Ministry of Agriculture & Forestry

(Received Feb 16, 2000)

Abstract : Duck viral hepatitis is an acute, highly infectious viral disease of young ducklings aged from two days to three weeks. The significant lesion associated with the disease was enlarged liver including necrotic foci and numerous hemorrhagic spots.

We have isolated five strains of duck hepatitis virus (DHV) from field cases showing about 20% mortality with a sign of opisthotonos. When a-day-old ducklings were intramuscularly inoculated with one of the isolates, 92% of the birds were died within 5 days.

We attempted to develop an attenuated strain of duck hepatitis virus (DHV) using one of the isolates by serial chicken embryo passages. The propagation of DHV in chicken embryos was carried 140 passages. The virus titer increased gradually from the 21st through the 50th passage, but there was no significant increase of virus titer in subsequent passages after then. Through the serial passages, the virulence of the virus for chicken embryos was gradually increased but decreased for ducklings. The pathogenicity of the virus for ducklings was preserved up to the 21st passage but disappeared at the 50th passage.

An attenuated Korean isolate which was passaged 140 times in chicken embryos gave good protection in ducklings against both challenge infection to a Korean virulent strain and to a DHV-DRL strain, a type 1 reference strain of DHV, which indicated that the Korean isolates could be classified as DHV type 1.

And the above results suggest that an attenuated Korean isolate can be used for developing a live DHV vaccine.

Key words : duck hepatitis virus, isolate, attenuation, vaccine.

서 론

오리 바이러스성 간염은 주로 3주 이하의 어린 오리에서 발생되며 병의 경과가 빠르고 폐사율이 높은 질병이다.^{1,2} 이 질병은 1950년 Levine과 Fabricant에 의해 최초로 보고된 이후 전세계적으로 발생되고 있으며 가까운 일본과 중국에서도 발생이 확인된 바 있고 국내에서는 1985년 전남지역에서 처음으로 발생이 보고된 바 있다.^{1,4,6}

오리 바이러스성 간염을 유발하는 바이러스는 duck hepatitis virus(DHV) type I, II 및 III이 알려져 있으나 DHV type I 과 III은 Picornaviridae과의 바이러스로 분류되며 DHV type II는 Astroviridae과로 분류되고 있다.⁷⁻¹⁰

DHV type I 에 감염된 오리들은 병의 경과가 매우 빠르게 진행되어 감염후 2일만에 죽게 된다. 폐사율은 감염되는 일령에 따라 다양하다. 즉, 1주 이하의 어린 오리에 감염될 경우에는 95% 정도가 죽게 되며 1~3주령의 오리에서는 50% 이내의 폐사가 있으나 4주령 이상의 오리에 감염될 경우에는 폐사가 전혀 나타나지 않는다. 관찰되는 주요 증상은 경련과 후궁만장 등의 신경증상이며 죽은 오리들은 간강이 부어있고 점상 및 반상출혈 소견이 나타나는 것이 특징적이다.³ DHV type II 혹은 III 에 감염되었을 경우에는 DHV type I 감염 때보다 폐사율은 높지 않으나 임상증상 및 부검소견은 DHV type I 감염과 거의 비슷하게 나타난다.¹¹⁻¹³

최근에 국내 야외 오리농장에서 임상증상 및 부검소견이 DHV 감염으로 의심되는 사례가 일부 확인되고 있다.¹⁴ 그러나 현재까지 국내에서 발생하는 오리 바이러스성 간염 바이러스의 type이 밝혀지지 않았을 뿐만 아니라 백신도 개발되거나 사용되고 있지 않은 실정이다. 본 연구에서는 최근에 국내에서 발생되고 있는 오리 바이러스성 간염의 원인체를 분리하여 그 type을 규명하고 국내 분리주를 이용한 생독백신주 선발가능성을 조사하고자 시험하였다.

재료 및 방법

바이러스 분리 : 오리 바이러스성 간염발생이 의심되는 오리농장의 가금물로부터 간장을 채취하여 바이러스 분리재료를 이용하였다. 바이러스 분리재료를 항생제가 첨가된 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.2)으로 20%(w/v)

v) 정도 되게 유제하여 1,000x g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 0.45 μ m syringe filter(Satorius, Germany)로 여과하여 사용하였다. 바이러스 분리는 국립수의과학검역원에서 사육중인 specific pathogen free(SPF) 종계로부터 유래된 8일령의 SPF 종란을 이용하여 실시하였다. 즉, 유제액 상층액을 8일령의 계태아 요막강으로 계란당 0.2 ml씩 접종하여 37 $^{\circ}$ C에서 배양하였다. 접종후 5일까지 매일 검란하여 죽은 계태아는 부검하여 DHV의 특이 병변 유무를 관찰하고 5일째까지 생존한 계태아는 머리를 제외한 몸통을 채취하여 PBS로 20% 되게 유제하여 -80 $^{\circ}$ C에서 보관하면서 특성조사 또는 계대용으로 사용하였다.

표준주 : 병원성 시험, 주령별 감수성 시험 등에 사용한 DHV type I 표준 바이러스는 ATCC로부터 구입한 DRL-62주(ATCC VR1313)를 사용하였다.

바이러스 계대 및 역가측정 : DHV 증식은 8~10일령의 SPF 종란을 이용하여 실시하였다. 즉, 바이러스를 8~10일령의 요막강으로 계란당 0.2ml씩 접종하여 37 $^{\circ}$ C에서 배양하였다. 매일 검란하여 계태아가 죽을 무렵 계태아 머리를 제외한 몸통을 채취하여 PBS로 20% 되게 유제하여 계대용으로 사용하였다. 바이러스의 역가는 10진 희석하여 희석당 5개의 종란에 접종한 후 측정하였다. 즉, 접종후 37 $^{\circ}$ C에서 6일간 배양하면서 폐사수를 측정하고 또한 생존 계태아의 경우에는 DHV의 특이 병변인 계태아 부종 및 위축, 간에 괴사소 형성 등의 부검병변을 고려하여 바이러스 유무를 확인하고 Reed & Muench의 방법¹⁵에 따라 ELD₅₀ 또는 EID₅₀량으로 계산하였다.

시험접종용 오리 : 시험에 사용한 오리는 시험개시전에 일부를 발취하여 공격적검합으로써 DHV에 대하여 감수성이 있음이 확인된 일반 식용오리를 구입하여 사용하였다.

계태아 순응주 선발 : 국내 분리주중 DHV-HSB를 8~10일령의 계태아에 140대까지 연속 계대배양하였다 약 20대 계대마다 계태아 몸통(20% 유제액)에서의 바이러스 역가를 측정하였다. 또한 계태아에 대한 병원성을 알아보기 위해 8, 10, 12일령 계태아의 요막강으로 각각 같은 용량의 바이러스를 접종하여 6일간 배양하면서 계태아에 대한 병원성을 비교하였다.

계태아 순응주의 오리에서의 병원성 시험 : DHV에 감수성이 있는 1일령의 북경종 오리(Pekin duck)와 가축화된 청둥오리(mallard duck)를 대상으로 계태아에 연속 계대된 바이러스를 마리당 10^{3.0} EID₅₀씩 근육접종하였다.

접종후 무균상자에서 2주간 사육하면서 폐사수를 조사하였다.

표준주 및 국내 분리주에 대한 계태아 순응주의 방어능 시험 : 계태아에 70, 90, 110대 계태된 바이러스를 각각 1일령 Pekin duck에 마리당 $10^{3.5}$ EID₅₀씩 근육접종하고 7일령때 대조군과 함께 DHV type 1 표준주 DRL-62 또는 병원성 국내 분리주를 각각 마리당 $10^{4.3}$ EID₅₀씩 근육접종으로 공격한 후 2주간의 폐사수를 조사하였다.

계태아 순응주의 성상 : 계태아 순응주의 물리화학적 성상을 알아보기 위해 100대 계태된 바이러스를 대상으로 chloroform, pH 3.0 및 trypsin 처리에 대한 바이러스 역가를 조사하였다. Chloroform 처리는 바이러스액 2ml과 chloroform 1 ml를 혼합하여 실온에서 10분간 흔들면서 섞은 다음 3,000rpm에서 10분간 원심하여 상층액의 생존 바이러스 역가를 조사하였다¹⁴. pH 3.0 처리는 Glycine-HCl buffer(pH 3.0) 1.8ml에 바이러스액 0.2ml를 첨가하여 실온에서 1시간 처리한 후 바이러스 역가를 측정하였다¹⁶. Trypsin 처리는 0.5% trypsin 0.2ml을 1.8ml의 바이러스액과 혼합하여 37°C에서 1시간동안 반응시킨 후 1ml의 chicken serum을 첨가하여 trypsin 활성을 제거시킨 다음 바이러스 역가를 조사하였다¹¹. 처리후의 바이러스 역가는 모두 8일령의 계태아의 요막강으로 접종하여 조사하였다.

각종 혈청이 DHV 증식에 미치는 영향 : 조류 및 포유류 혈청들이 DHV 증식에 미치는 영향을 알아보기 위해 계태아 섬유아세포(chicken embryo fibroblast CEF cell) 유지배지(Medium 199과 Ham F-10 Nutrient mixture를 1:1로 혼합한 배지에 10% tryptose phosphate broth를 첨가한 배지)에 각종 혈청을 첨가하여 배양하면서 바이러스 역가 변화를 조사하였다. 즉, 25cm² 조직배양용 플라스크에 CEF 단층세포를 배양한 뒤 유지배지에 Gibco BRL사의 닭 혈청, 송아지 혈청, 말 혈청, 돼지 혈청을 각각 2% 되게 첨가하여 배양하면서 바이러스 증식능을 조사하였다. 25cm² 조직배양용 플라스크에 형성된 CEF 세포에 바이러스 0.5ml와 각각의 혈청이 포함된 유지배지 4.5 ml를 첨가하여 6일간 배양한 뒤 3회 동결융해하여 바이러스 역가를 측정하였으며 이러한 방법으로 CEF 세포에 5대 계태배양하면서 바이러스 증식능을 조사하였다.

결과 및 고찰

야외 감염오리로부터 DHV 분리 : DHV 감염이 의심

되는 야외 농장으로부터 바이러스 분리를 시도하여 1996년부터 1998년까지 총 5주의 바이러스를 분리하였다. 바이러스는 20~25%의 폐사가 있는 5~15일령의 오리로부터 분리되었다(Table 1). 바이러스로 인한 계태아 병변은 대부분 1~2대 계태아 계대 때부터 나타나기 시작하였고 계대수가 증가할수록 병변이 뚜렷하였다. 주요 병변은 계태아의 위축과 부종, 간에 피사소 침착 등이었다(Fig 1).

Table 1. DHV isolation from field outbreak cases

DHV isolates	Flock history	
	Age(day)	Mortality
DHV HSB	10	5,000/21,000(24%)
DHV AS	15	500/2,000(25%)
DHV HSS	5	300/1,500(20%)
DHV HSJ	7	2/2,000(2%)
DHV-MO	13	546/2600(21%)

국내 분리주의 병원성 : 국내 분리주중 1주를 선발하여 표준주 DRL-62주와 함께 오리에서의 병원성을 주령별로 조사하였다. Pekin duck에 대한 국내 분리주의 병원성은 1일령때 접종하였을 경우 92%, 1주령과 2주령에 각각 접종하였을 경우에는 87%와 60%의 폐사를 유발하여 표준주 DRL-62주와 비슷하게 매우 높은 것으로 나타났다(Table 2). 대부분의 폐사는 감염후 72시간 이내에 나타났고 전형적인 후궁반장의 증상과 함께 간에 심한 출혈소관이 관찰되는 것이 특징이었다(Fig 2). 한편 mallard duck에 대한 국내 분리주의 병원성은 2주령 이내에 접종하였을 경우에는 폐사가 나타났긴 하였으나 그 정도는 Pekin duck에서 보다는 낮은 것으로 보였다. 또한 표준주를 감염시킨 경우에도 일반적으로 Pekin duck이 mallard duck 보다 많이 죽는 것으로 나타나 통계치리에 의한 결과는 아니지만 DHV에 대한 감수성은 Pekin duck이 더 높은 것으로 보였다. Hwang¹은 닭, guinea chicks, Muscovy duckling 등에 DHV를 접종하여 병원성을 조사한 결과 Muscovy duckling은 바이러스에 감염은 되지만 전혀 병증이 나타나지 않음을 보고하여 오리 품종에 따른 감수성 차이를 시사하였다. 또한 Friend와 Trainer는¹⁸ mallard duck에 DHV를 접종한 결과 Pekin duck에서와 같이 폐사 및 병변이 나타나는 것을 확인하고 wild mallard

Table 2. Pathogenicity of a Korean isolate(DHV-HSB) in ducklings

Inoculated age	DHV-HSB ¹⁾		DRL-62 ¹⁾	
	Pekin duck	Mallard duck	Pekin duck	Mallard duck
1 day	11/12(92%) ²⁾	10/15(67%)	12/12(100%)	9/15(60%)
1 week	13/15(87%)	7/13(54%)	15/15(100%)	5/12(42%)
2 weeks	9/15(60%)	2/15(13%)	12/15(80%)	NT
3 weeks	NT	0/15(0%)	NT	NT

¹⁾ Inoculated intramuscularly with $10^{4.3}$ EID₅₀ of DHV per duck.

²⁾ No. of the dead/No. of the inoculated(% mortality).

The mortality was observed for 10 days after inoculation.

NT; not tested.

duck에서도 DHV 발생가능성이 있음을 주장하였다. 본 실험에서 사용한 mallard duck은 국내에서 가축화된 청둥오리로서 2주령 이내에 DHV를 인공감염시켰을 경우 폐사율이 비교적 높은 것으로 나타났다. 따라서 국내의 청둥오리 사육농가에서도 DHV 감염이 있을 경우 피해가 나타날 수 있을 것으로 추측되었다.

계태아 순응주 선발 : 국내 분리주중 1주(DHV-HSB)를 선발하여 8~10일령의 계태아에 140대까지 연속 계태배양하였다. 약 20대 간격마다 계태별로 계태아 몸통(20%, 유체액)에서의 바이러스 역가를 조사하였다. 50대 계태배양 이후의 바이러스 역가는 $10^{6.6}$ 에서 $10^{7.4}$ EID₅₀ 정도를 유지하여 처음 계태 때(6대)보다 바이러스 역가가 높

아지는 것을 확인할 수 있었다(Table 3). 또한 계태별로 8, 10, 12일령 계태아에 대한 병원성을 조사한 결과 6대 계태배양된 바이러스는 10일령과 12일령 계태아를 각각 50%와 10%를 죽이는 것으로 나타났다. 그러나 계태수가 높아질수록 계태아에 대한 병원성은 점점 증가하여 계태아에 순응되는 것으로 나타났다(Table 3).

계태아 순응주의 오리에서의 병원성 : 계태아 순응주들을 감수성이 있는 1일령 Pekin duck 및 mallard duck에 접종하여 오리에서의 병원성 유무를 조사하였다. 21대 계태된 바이러스는 Pekin duck에서 73%의 폐사를 유발하였고 mallard duck에서도 4%의 폐사율 일으키는 것으로 나타나 아직 오리에 대한 병원성이 남아있음을 확인

Table 3. Serial passages and subsequent changes of the virulence of a DHV isolate (DHV HSB) in the chicken embryo

No. of passage	Virus yield (EID ₅₀ /0.2ml)	Embryo mortality ¹⁾		
		8 days	10 days	12 days
6	$10^{5.3}$	10/10 ²⁾	5/10	1/10
21	$10^{5.8}$	10/10	6/10	2/10
50	$10^{7.4}$	10/10	8/10	5/10
70	$10^{7.3}$	15/15	15/15	12/15
90	$10^{6.6}$	15/15	15/15	11/15
111	$10^{7.3}$	15/15	15/15	15/15
125	$10^{6.6}$	15/15	15/15	15/15
140	$10^{6.8}$	15/15	15/15	10/15

¹⁾ Inoculated with $10^{3.0}$ EID₅₀/egg and observed for 6 days after inoculation.

²⁾ No. of the dead/No. of the inoculated.

Table 4. Pathogenicity of the chicken embryo-passaged strains in ducklings

Inoculated virus	No. of passage	No. of the dead/No. of the inoculated (mortality)	
		Pekin duck	Mallard duck
DHV-HSB ¹⁾	6	12/15(80%) ²⁾	9/15(60%)
	21	11/15(73%)	1/25(4%)
	50	0/15(0%)	0/25(0%)
	70	0/30(0%)	0/20(0%)
	90	0/30(0%)	0/20(0%)
	110	0/40(0%)	NT
	140	0/40(0%)	NT
Uninoculated control		0/30(0%)	0/25(0%)

¹⁾Inoculated intramuscularly with 10^{3.5} EID₅₀ per duck at 1 day old

²⁾No. of the dead/No. of the inoculated (% mortality).

NT: not tested.

할 수 있었다(Table 4). Asplin과 McLauchlan²⁾은 계태아에 22대 계태양된 바이러스는 오리에 대한 병원성이 남아있음을 확인하였는데 본 실험에서도 20대 계태아 바이러스의 경우에는 병원성이 남아있는 것으로 나타나 이들의 보고와 유사하였다. 50대 이후 계태아 바이러스를 접종한 경우에는 Pekin duck이나 mallard duck 모두에서 전혀 폐사를 유발하지 않는 것으로 나타나 병원성이 소실된 것으로 판단되었으며 다른 연구자들의 결과와 유사하였다^{19,20}. 따라서 50대 이후 계태아 바이러스는 면역원성이나 안전성이 확보되면 백신주로서의 선발가능성이 있을 것으로 판단되었다.

표준주 및 국내 분리주에 대한 계태아 순응주의 방어능 시험: 계태아에 70, 90, 110대 계태아 바이러스를 대상으로 국내 분리주와 표준주에 대한 방어능을 조사하였다. 1일령때 각각의 계태 바이러스를 접종하고 7일령때 대조군과 함께 DHV type 1 표준주 DRI-62와 병원성 국내 분리주로 각각 공격접종하였다. 공격접종 결과 무접종 대조군은 표준주와 국내 분리주에 대해 각각 93%와 87%의 폐사가 있었다. 반면 계태아 순응주로 면역시킨 후 공격접종한 실험군에서는 전혀 폐사가 나타나지 않아 방어능이 있는 것으로 판단되었다(Table 5). 또한 국내 분리주로 면역시킨 오리들은 모두 DHV type 1 표준주 DRI-62의 공격접종에 대해서도 방어가 되는 것으로 나타났으며 DHV가 서로 다른 혈형형간에 교차면역

원인이 없는 점을 고려할 때²¹ 국내 분리주는 DHV type 1인 것으로 판단되었다.

Table 5. Protectivity of an attenuated DHV-HSB strain in Pekin ducklings

Vaccinated virus ¹⁾	Challenge result ²⁾	
	DHV-HSB	DRI-62
HSB 70th	0/15(0%) ³⁾	0/15(0%)
HSB 90th	0/15(0%)	0/15(0%)
HSB 110th	0/20(0%)	0/20(0%)
Unvaccinated	13/15(87%)	14/15(93%)

¹⁾Vaccinated intramuscularly with 10^{3.5} EID₅₀ per duckling at 1 day old.

²⁾Challenged intramuscularly with 10^{4.3} EID₅₀ per duckling at a week old.

³⁾No. of the dead/No. of the challenged(% mortality).

계태아 순응주의 성장: 100대 계태아 순응주 계태아 순응주를 대상으로 물리화학적 성상을 조사하였다(Table 6). 시험결과 계태아 순응주는 chloroform 처리, pH 3.0 처리와 trypsin 처리에 모두 저항성이 있는 것으로 나타나 Tauraso *et al*¹⁰⁾이 보고한 DHV 성장과 일치하였다. 유기용매인 chloroform에 저항성이 있는 것으로 보아 국내 분리주 유래 계태아 순응주는 외피막이 없는 바이러스일 것으로 판단되었다. 오리 소화기 장기간에서의 pH는 소낭에

서 4.9, 신위에서 3.4, 근위에서는 2.3, 십이지장이나 기타 소장에서는 6.0-6.9 정도인 것으로 알려져 있다²². 따라서 본 실험에서 계태아 순응주는 pH 3.0이나 소화효소인 trypsin에 저항성이 있는 것으로 나타나 백신주로 개발되어 음수 투여하였을 경우에도 소화기에서 거대한 역가 감소가 나타나지 않을 것으로 추정되었다.

각종 혈청이 계태아 순응주의 증식에 미치는 영향 :

Table 6. Physico-chemical properties of an attenuated DHV-
HSB strain¹⁾

Treatment	Virus titer(ELD ₅₀ /0.2ml)
Untreated	10 ^{6.2}
Chloroform	10 ^{6.5}
Untreated	10 ^{3.8}
pH 3.0 for 1 hour	10 ^{4.0}
Untreated	10 ^{5.2}
0.05% trypsin for 1 hour	10 ^{5.4}

¹⁾The 100th passaged virus in a chicken embryo was used

닭 혈청이나 기타 포유류 혈청이 계태아 순응주 증식에 미치는 영향을 조사하였다. 닭 혈청을 유지배지에 2% 첨가하여 배양하였을 경우에는 혈청 무첨가 대조군에 비해 일반적으로 높은 역가가 유지되는 것으로 나타났다. 반면 돼지 혈청을 첨가한 실험에서는 1대 계태후 바이러스 역가가 심하게 감소되었으며 5대 계태 후에는 바이러스가 완전히 사라지는 것으로 나타나 계태아 순응

주의 증식이 억제되는 것으로 추정되었다. 송아지 혈청과 말 혈청의 경우에도 무첨가 대조실험에 비해 일반적으로 역가가 낮은 것으로 나타나 순응주의 증식이 다소 억제되는 것으로 판단되었다(Table 7). Chalmers과 Woolcock²³는 DHV plaque assay 때 송아지나 토끼, 개 등의 포유류 혈청을 첨가할 경우 plaque 크기가 크게 감소하나 오리나 닭 혈청을 첨가할 경우에는 영향을 별로 없음을 확인하였으며 이러한 inhibitory factor들은 혈청의 albumin 분획에 존재한다는 사실을 확인하였다. McFerran^{25,26}은 bovine enterovirus는 여러 혈청에 의해 증식기에 영향을 받으며 그중 특히 포유류 혈청에 의해 많은 영향을 받는다는 사실을 확인하였다. 본 실험에서 DHV의 경우에도 닭 혈청은 증식에 영향을 미치지 않으나 포유류 혈청 특히 돼지 혈청은 바이러스 증식을 크게 방해하는 것으로 나타났다. 따라서 DHV를 세균배양으로 증식하고자 할 경우에는 배지에 첨가하는 혈청은 일반적인 송아지 혈청이 아닌 닭 혈청을 사용하여야 할 것으로 판단되었다.

결론

후궁반장의 임상증상을 보이며 약 20% 정도의 폐사가 있는 오리농장으로부터 오리 감염 바이러스 5주를 분리하였다. 이중 1주를 1일령 Pekin duck에 접종한 결과 92%의 높은 폐사를 나타내어 type 1 표준주 DRL-62와 병원성이 유사한 것으로 파악되었다. 국내 분리주중 1주를 8-10일령의 계태아에 연속 저대배양하여 계태아 순응주 선발을 시도하였다. 140대까지 저대배양한 결과 계

Table 7. The effects of various sera on DHV replication in CEF cell cultures

Sera (2%)	Virus titers following serial passages (log ₁₀ ELD ₂₀ /0.2ml ¹)					
	Before passage	1st	2nd	3rd	4th	5th
Chicken serum	3.9 ¹⁾	3.7	3.8	4.5	4.5	4.5
Calf serum	3.9	2.2	2.3	3.5	2.3	NT
Horse serum	3.9	2.6	3.0	3.5	3.5	1.8
Porcine serum	3.9	1.6	0.9	0.5	0.3	0
None	3.9	3.4	2.8	4.5	2.8	3.3

¹⁾The 100th passaged virus in the chicken embryo was used.
NT: not tested.

대수가 증가할수록 계태아에 대한 병원성은 증가하는 것으로 나타났다. 계태배양된 바이러스들을 대상으로 오리에 대한 병원성을 조사한 결과 21대 이하 계태배양된 바이러스는 병원성을 가지고 있었으나 50대 이상 계태배양된 바이러스는 병원성이 소실된 것으로 나타났다. 병원성이 소실된 계태아 순응주로 감수성 오리를 면

역시킨 후 병원성 국내 분리주 및 DHV type 1 표준주로 공격접종한 결과 모든 시험군에서 방어능이 인정되어 백신주로서의 개발가능성이 있는 것으로 판단되었다. 또한 표준주 DRL-62주 공격접종에도 방어능이 있는 것으로 나타나 국내 분리주는 type 1 바이러스일 것으로 추정되었다.

Legends for figures

Fig 1. Chicken embryos with necrotic foci on the liver due to infection of DHV-HSB, a Korean DHV isolate.

Fig 2. Multiple hemorrhagic spots on the liver due to infection of a Korean DHV isolate.

참 고 문 헌

1. Woolcock PR, Fabricant J. Duck hepatitis. In *Disease of poultry*, 10th ed. Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR and Saif YM, eds, Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA:661-673, 1997.
2. Asplin FD, McLaughlan. Duck virus hepatitis. *Vet Record*, 66:456-458, 1954.
3. Fabricant J, Rickard CG, Levin PP. The pathology of duck virus hepatitis. *Avian Dis*, 1:256-275, 1957.
4. Levine PP, Fabricant J. A hitherto-undescribed virus disease of ducks in North America. *Cornell Vet*, 40: 71-86, 1950.
5. Park NY. Occurrence of duck virus hepatitis in Korea. *Korean J Vet Res*, 25:171-174, 1985.
6. Sazawa H, Sugimori T, Shimizu T, et al. Isolation and behavior of duck hepatitis virus in *Japan Natl Inst Animal Health Quart*, 3:71-76, 1963.
7. Gough RE, Collins MS, Borland E, et al. Astrovirus-like particle associated with hepatitis in ducklings. *Vet Record*, 114:279, 1984.
8. Haider SA, Calnek BW. *In vitro* isolation, propagation and characterization of duck hepatitis virus type III. *Avian Dis*, 23:715-729, 1979.
9. Richter WR, Rozok EJ, Moize SM. Electron microscopy of virus like particles associate with duck viral hepatitis. *Virology*, 24:114-116, 1964.
10. Tauraso NM, Coghill GE, Klutch MJ. Properties of the attenuated vaccine strain of duck hepatitis virus. *Avian Dis*, 13:321-329, 1969.
11. Gough RE, Borland ED, Keymer IF, et al. An outbreak of duck hepatitis type II in commercial ducks. *Avian Pathol*, 14:227-236, 1985.
12. Asplin FD. Duck hepatitis virus: Vaccination against two serological types. *Vet Rec*, 77:1529-1530, 1965.
13. Toth TE. Studies of an agent causing mortality among ducklings immune to duck virus hepatitis. *Avian Dis*, 13:834-846, 1969.
14. '98년 *Annual Report*. 국립수의과학검역원 연보 제 2권. 연구사업보고서편, 293-300, 1999.
15. Reed LJ, Muench H. A simple method for estimating fifty percent endpoints. *Am J Hyg*, 27:493-497, 1938.
16. Burleson FG, Chambers TM, Wiedbrauk DM. *Virology*, A laboratory manual. Academic Press Inc, San Diego, California: 114-117, 1992.
17. Hwang Jen. Susceptibility of poultry to duck hepatitis viral infection. *Am J Vet Res*, 35:477-479, 1974.
18. Friend M, Trainer DO. Experimental duck virus hepatitis in the mallard. *Avian Dis*, 16:692-699, 1972.
19. Asplin. An attenuated strain of duck hepatitis virus. *Vet Record*, 70:1226-1230, 1958.
20. Hwang J, Dougherty E 3rd. Serial passage of duck hepatitis virus in chicken embryos. *Avian Dis*, 6:435-440, 1962.
21. Aspline FD. Duck hepatitis: vaccination against two serological types, *Vet Rec*, 77:1529-1530, 1965.
22. Duke GE. Alimentary Canal: Secretion and Digestion, Special Digestive Functions, and Absorption. In *Avian Physiology*, 4th ed, P.D. Sturkie, ed, Springer-Verlag New York, Inc, New York, USA:289-302, 1986.
23. Chalmers WSK, Woolcock PR. The effect of animal sera on duck hepatitis virus. *Avian Pathol*, 13:727-732, 1984.
24. McFerran JB. A substance in the sera of man and animals neutralising a bovine enterovirus. *J Pathol and Bacteriol*, 83:83-88, 1962.
25. McFerran JB, Dane DS, Briggs EM, et al. Further investigations on enterovirus-neutralising substances in human and animal sera. *J Pathol and Bacteriol*, 95: 93-99, 1968.