大韓獸醫學會誌(2009) 第49卷 第2號
Korean J Vet Res(2009) 49(2) : 127~133

국내 시판 *Salmonella gallinarum* 9R vaccine의 안전성 및 면역원성 비교

황제균 · 이영주*
경북대학교 수의과대학
(게재승인: 2009년 4월 20일)

Comparison of the safety and immunogenicity of commercial *S. gallinarum* 9R vaccine

Jei Kiun Hwang, Young Ju Lee*
College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea
(Accepted: April 20, 2009)

Abstract : *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *gallinarum* (*S. gallinarum*) is the agent of fowl typhoid, and the 9R vaccine is a commercial live vaccine for the prevention of fowl typhoid. The aim of this study was to assess the safety and immunogenicity of different brands of *S. gallinarum* 9R vaccine used in commercial laying chickens in Korea. All 9R strains originated from three different brands showed the same pattern in the biochemical and serological properties, and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) profile. But, there was a difference in rhamnose fermentaion, agglutination with *Salmonella* group D_1 antiserum and PFGE pattern between 9R vaccine strain and field *S. gallinarum* isolates. In laboratory and field trials for assesment of safety and immunogenicity of 9R vaccine, all of the three 9R vaccines showed the same safety in commercial laying chickens. In addition, there was a significant difference between the vaccinated and unvaccinated control groups in mortality and the re-isolation rate of the challenge strain from the tissues ($p < 0.05$), and no difference by the brands of 9R vaccine. The results from this study indicated that all three different brands of *S. gallinarum* 9R vaccine showed highly protection against mortality and organ invasion in commercial laying chickens exposed to virulent strains of *S. gallinarum*.

Keywords : immunogenicity, 9R vaccine, safety, *Salmonella gallinarum*

서 론

Salmonella enterica subsp. *enterica* serovar *gallinarum* (*S. gallinarum*)은 닭에서 가금티푸스를 유발하는 원인균으로 어린 병아리에서부터 노계에 이르는 전 연령에 걸쳐 높은 폐사율과 간, 비장 및 신장의 종대를 특징으로 하고 있다 [1]. 국내 가금티푸스 발생은 1992년 김 등 [3]에 의해 공식적으로 보고되었으며 이 후, 양계농장의 차단방역 실패 및 위생관리 부실 등을 틈타 전국적으로 급속히 확산되어 경제적 피해를 유발하였다 [2, 4, 6].

가금티푸스의 방제를 위하여 사균백신이 개발, 보급됨과 아울러 감수성 있는 각종 항균제의 투약 등이 수년간 이루어져 왔으나 [1, 2, 5, 7, 8], *S. gallinarum* 의 숙주세포 특히 비장과 간에서의 증식성, 국내 분리주의 고병원성 및 난계대 전염방식 등으로 오랜시간동안 효과적인 방제가 이루어지지 못하고 있었다 [9, 18]. 그러나 2001년 *S. gallinarum* 9R 균주를 이용한 생균백신이 외국기업으로부터 수입, 시판된 이후 국내 산란계에서의 가금티푸스 발생은 급격히 감소되었으며 [16], 이후 근년에 이르러는 동일한 균주를 사용한 생균백신이 국

*Corresponding author: Young Ju Lee
College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea
[Tel: +82-53-950-7793, Fax: +82-505-950-7793, E-mail: youngju@knu.ac.kr]

내기업에 의해 생산되어 시판됨으로 국내 양계농가에 널리 사용되고 있는 상황이다.

S. gallinarum 9R 균주는 전세계적으로 특허등록이 되어있지 않은 균주로 최근에는 이 균주를 이용한 백신을 국내기업에서 생산, 시판함으로 수입백신과의 가격 경쟁 측면에서 양계농가에 큰 경제적 이익을 유발하고 있다. 그러나 1950년대에 개발된 *S. gallinarum* 9R 균주의 계대횟수, 보관방법 및 보관기간 등 균주의 역학자료가 뚜렷하지 않아 생물학적, 생화학적 성상 및 안전성과 면역원성에 차이가 나타날 수 있으며, 따라서 국내에서는 본 균주를 이용한 백신생산의 허가시 균주의 특성, 실험실적 안전성 및 면역원성, 또한 야외농장에서의 안전성 및 면역원성을 시험하도록 요구하고 있다. 본 연구의 목적은 현재 국내 및 외국기업으로부터 생산, 시판되고 있는 *S. gallinarum* 9R 균주를 이용한 생균백신이 야외농장에서 널리 사용되고는 있지만, 생산회사별 제품의 효능평가가 과학적인 근거자료 없이 다양하게 이루어지고 있어 양축농가에 혼선을 가져다주고 있음에 따라 현재 국내 실용산란계 농장에서 사용되고 있거나 시판을 준비하고 있는 백신을 대상으로 균주의 특성, 실험실적 및 야외농장에서의 안전성 및 면역원성을 동일한 조건에서 비교, 조사해 보고자 하였다.

재료 및 방법

시험백신

인터베트코리아에서 시판하고 있는 Nobilis SG9R 백신(Nobilis SG9R), 코미팜에서 시판하고 있는 9R VAC 백신(9R VAC) 및 고려비엔피에서 시험 생산한 BNP SG9R 백신(BNP SG9R)을 시험에 사용하였다.

시험균주

Nobilis SG9R, 9R VAC 및 BNP SG9R에서 분리한 *S. gallinarum* 9R 균주, 표준균주인 *S. gallinarum* ATCC 9184 및 야외분리주 Sg-1, Sg-2, Sg-3, Sg-4, Sg-5, Sg-6 및 Sg-7을 시험에 사용하였다.

시험균주의 생화학적 및 혈청학적 특성조사

시험균주를 tryptic soy broth(TSA; Biolife, Italy)에 접종하여 37ºC에서 24시간 배양하고 이를 MacConkey agar(Biolife, Italy)에 이식하여 배양한 후, 각각 3개 이상의 집락을 선택하여 특성시험을 실시하였다. 생화학적 성상을 비교하기 위하여는 Edwards 등 [12]과 Christensen 등 [11]의 방법에 따라 운동성, D-glucose첨가 당배지에서의 gas 산생능, dulcitol, maltose 및 rhamnose 분해능, ornithine 이용능 및 주석산 이용능을 조사하였으며, 혈청학적 성상 조사는 제조회사의 방법에 따라 *Salmonella* D_1 항혈청(Difco, USA)과의 평판응집반응을 실시하였다.

시험균주의 pulsed field gel electrophoresis

미국질병통제센터(Centers for Disease Control and Prevention)의 'PulseNet'에서 사용되는 pulsed field gel electrophoresis(PFGE) 표준실험법에 준하여 실시하였다[10]. 공시균을 TSA에 접종한 후 37ºC에서 18-24시간 배양하고, colorimeter(BioMerieux Vitec, USA)를 이용하여 2 ml cell suspension TE buffer(100 mM Tris; pH 7.5, 100 mM EDTA)에 균탁도를 15-20%되게 조정하였다. 균 현탁액 200 µl과 1.2% Seakem gold agarose(Cambrex, USA) 200 µl를 섞은 후 plug mold의 각 well에 집어 넣어 실온에서 10-15분간 굳힌 다음 plug를 EB buffer(0.5 M EDTA; pH 8.0, 1% sodium lauroyl sacosine) 1.5 ml와 proteinase K(20 mg/ml) 40 µl가 첨가된 2 ml tube에 넣어 55ºC 진탕항온수조에서 175 rpm으로 1.5시간 반응 시켰다. 이후 plug wash TE buffer(10 mM Tris; pH 7.5, 1 mM EDTA)를 사용하여 55ºC 진탕항온수조에서 175 rpm으로 20분씩 5회 반복하여 세척하였으며 세척된 plug는 1.5 ml plug wash TE buffer에 넣은 후 4ºC에서 보관하면서 사용하였다. 냉장된 plug를 꺼내어 면도날을 이용하여 1-2 mm의 두께로 자른 다음, plug slice를 *Sma*I으로 25ºC에서 24시간 동안 제한효소 처리하였으며, CHEF Mapper XA chiller system(Bio-Rad, USA)를 이용하여 1% Sekem gold agarose(Cambrex, USA)상에서 gradient 6.0 v/cm, angle 120ºC, initial time 2.16초, final time 63.8초의 조건으로 14ºC에서 18시간 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 완료 후 ethidium bromide 용액(0.5 µg/ml)에 gel을 넣어 염색하여 분절을 확인하였으며, 표준 marker로는 DNA size standard lambda ladder(Bio-RAD, USA)를 사용하였다.

시험백신의 실험실 내 안전성 및 면역원성 조사

시험에 사용된 공시 시험계는 '추백리 · 가금티푸스 방역실시요령'에 따른 검사에서 살모넬라 음성종계군으로 확인된 종계 유래 1일령 실용산란계 병아리로 실험실로 운반하여 격리사육장치에서 시험개시까지 사육하였으며, 시험개시 직전에 사육수수의 10% 이상에 대하여 추백리진단액 및 *Salmonella* group D_1 ELISA kit를 이용하여 살모넬라 감염여부를 확인 후 시험에 사용하였다. 안전성 조사를 위하여 Nobilis SG9R, 9R VAC 및 BNP SG9R 1수분 및 10수분씩을 6주령의 갈색산란계에 피하로 접종하고, 접종 후 21일동안 관찰하였다. 조사항목은 백신균량 측정, 백신접종반응출현여부, 3주간의 증체량, 백신균주에 기인한 폐사발생여부 및 백신균주에

기인한 임상증상 발현여부를 확인하였다. 백신의 면역원성은 1회백신 또는 2회백신 후 공격접종을 실시하여 조사되었다. 1회백신에 대한 면역원성 조사를 위해서는 Nobilis SG9R, 9R VAC 및 BNP SG9R 1수분을 6주령의 갈색산란계에 피하로 접종하고 3주후에 야외주인 Sg-98252균주를 경구로 2×10^8 cfu되게 접종하였다. 2회백신 후 면역원성 조사는 동일한 백신을 6주령의 갈색산란계에 1차접종한 후 11주령에 2차접종을 실시하고, 3주후인 14주령에 Sg-98252주를 2×10^8 cfu되게 경구접종하였다. 공격접종 후 2주간의 폐사율과 2주후 부검을 실시하여 간, 비장 및 맹장에서 공격균주인 Sg-98252의 균분리를 실시하였다. 균분리는 각 장기를 swab하여 RV broth에 접종하여 24시간 배양한 후, 이를 MacConkey agar에 도말하였으며 무색 집락이 나타날 경우 Mucap reagent(Bio-rad, USA)로 형광을 띄는 집락만 순수분리하여 *Salmonella* group D_1 항혈청과의 응집반응에서 양성을 나타낼 경우 Sg-98252주로 판명하였다. 조사항목에 대한 통계학적 유의성은 Student *t*-test를 이용하여 $p < 0.05$이하의 유의성만을 통계학적 차이로 인정하였으며, 모든 시험은 3반복 실시 및 각 시험구별 시험계는 15수를 원칙으로 하였다.

시험백신의 야외 농장에서의 안전성 및 면역원성 조사

갈색산란계를 사육하는 야외 농장 중 1계군의 수가 최소 3,000수 이상이 되며 과거 가금티푸스 발생 경력이 있는 KB 농장, BS 농장 및 MD 농장을 임의로 선정하여 농장의 백신스케쥴에 따라 Nobilis SG9R 백신 및 BNP SG9R 백신을 6~7주령에 1차접종 및 15~18주령에 2차접종을 실시하였으며, 백신 비접종 대조군을 두어 시험종료시까지 같은 계사내에서 동거사육하였다. 이때 Nobilis SG9R 접종군 및 BNP SG9R 접종군은 각각 계군수의 45%가 되게 접종하였으며 백신 비접종 대조군은 계균의 10%가 되게 하여 케이지 최상단에 사육하면서 백신접종군과 직접 접촉이 되지 않도록 하였다. 야외농장에서의 백신의 안전성을 확인하기 위하여 33주령까지 백신접종반응 출현여부, 백신균주에 기인한 폐사발생 여부 및 백신균주에 기인한 임상증상 발현여부를 확인하였으며, 야외농장에서 사육되는 실용산란계에 대한 백신의 면역원성을 조사하기 위하여 33주령때 Noblis SG9R 접종군, BNP SG9R 접종군 및 백신 비접종 대조군 20수를 무작위로 선발하여 실험실로 운반하고 18시간 절식시킨 다음, 야외분리주인 Sg-98252주를 2×10^8 cfu되게 경구접종하였다. 공격접종 후 2주간의 폐사율과 2주후 부검을 실시하여 간, 비장 및 맹장에서 공격균주인 Sg-98252의 균분리를 실시하였다. 균분리는 실험실내 안전성 및 면역원성 조사와 동일한 방법으로 실시하였으며 통계학적 유의성은 Student *t*-test를 이용하여 $p < 0.05$ 이하의 유의성만을 통계학적 차이로 인정하였다.

결 과

시험균주의 생화학적 및 혈청학적 특성

Nobilis SG9R, 9R VAC 및 BNP SG9R에서 분리한 *S. gallinarum* 9R 균주 모두 동일한 생화학적 및 혈청학적 특성을 가지고 있었으며, 표준 및 야외 강독형의 *S. gallinarum* 균주들과 비교시 rhmnose 분해능 및 *Salmonella* group D_1 항혈청과의 응집능에서 차이를 보여 이들 두 방법을 이용시 백신균주 및 야외 분리주와의 감별이 가능함을 알 수 있었다(Table 1).

Table 1. Comparison of biochemical and serological characteristics of *Salmonella* enterica subsp. enterica serovar *gallinarum* (*S. gallinarum*) 9R stains originated from different brands

Tests	9R strains			Standard strain	Field isolates						
	Nobilis SG9R	9R Vac	BNP SG9R	ATCC 9184	Sg-1	Sg-2	Sg-3	Sg-4	Sg-5	Sg-6	Sg-7
Motility	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve
Gas production	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve
Dulcitol	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve
Maltose	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve
Rhamnose	+ve	+ve	+ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve
Ornithine dicarboxylase	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve	-ve
Jordan's tartrate	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve
Agglutination with Salmonella group D_1 antiserum	-ve	-ve	-ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve	+ve

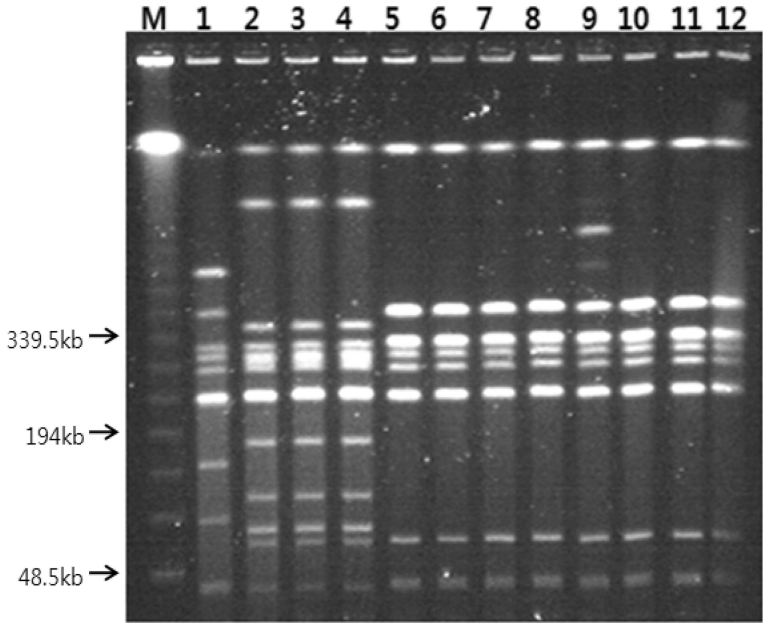

Fig. 1. Representative *Sma*I pulsed field gel electrophoresis patterns of *S. gallinarum* strains. M is lambda ladder used as a molecular size marker. Lane 1, *S. gallianrum* ATCC 9184; Lane 2, Nobilis SG9R; Lane 3, 9R Vac; Lane 4, BNP SG9R; Lane 5 to 12, *S. gallinarum* field isolates.

Table 2. Safety of *S. gallinaurm* 9R vaccine at 6-week-old laying chickens

Group	Vaccine dose	Number of chickens tested	Mean body weight gain (g)	Chickens showing clinical signs (%)	Mortality (%)
Nobilis SG9R	1 dose	45	461.4 ± 28.23	0	0
9R VAC	1 dose	45	468.7 ± 53.55	0	0
BNP SG9R	1 dose	45	455.6 ± 72.59	0	0
Nobilis SG9R	10 doses	45	467.7 ± 22.17	0	0
9R VAC	10 doses	45	470.4 ± 29.15	0	0
BNP SG9R	10 doses	45	467.4 ± 78.29	0	0
Control*	-	45	470.8 ± 41.15	0	0

All the chickens were examined for 21 days after vaccination. *Chickens of control group were inoculated subcutaneously with 0.25 sterile saline.

PFGE

*Sma*I 제한효소를 이용하여 PFGE 패턴분석을 실시한 결과, Nobilis SG9R, 9R VAC 및 BNP SG9R에서 분리한 *S. gallinarum* 9R 균주 모두 동일한 패턴양상을 나타내었으며, 표준 및 야외 강독형의 *S. gallinarum* 균주들과는 뚜렷한 차이를 나타내었다(Fig. 1).

시험백신의 실험실적 안전성 및 면역원성

시험백신 균주의 안전성을 확인하기 위하여 6주령 산란계에 1수분 용량 및 10수분 용량을 접종하고 3주후에 증체량, 임상증상 및 폐사율을 조사한 결과, Nobilis SG9R, 9R VAC 및 BNP SG9R 접종군 모두 백신비접종 대조군과 비교시 증체량에 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 특이한 임상증상 및 폐사 또한 관찰할 수 없었다(Table 2).

시험백신의 실험실적 면역원성을 확인하기 위하여 6주령 산란계에 1회 접종 및 6주령과 11주령에 2회 접종한 시험계에 대해 야외 강독형의 *S. gallinarum* 을 공격접종 한 결과, 1회 또는 2회 백신을 접종한 시험군의 폐사율은 2.2~8.9%로 백신비접종대조군의 폐사율 97.8~100%와 비교시 백신접종군 모두 유의성있게 낮은 폐사율을 나타내었다. 또한 실질장기에서의 공격균주 재분

Table 3. Protective efficacy of *S. gallinarum* 9R vaccine at laying chickens in the lab. trial

Products	Number of chickens tested	Age at		Number (%) of chickens dead*	Number (%) of chickens with re-isolation from tissue†		
		Vaccination	Challenge		Liver	Spleen	Cecum
Nobilis SG9R	45	6 week	9 week	2 (4.4)‡	17 (37.8)‡	25 (55.6)‡	8 (17.8)‡
9R VAC	45	6 week	9 week	2 (4.4)‡	17 (37.8)‡	27 (60.0)‡	10 (22.2)‡
BNP SG9R	45	6 week	9 week	2 (4.4)‡	17 (37.8)‡	25 (55.6)‡	9 (20.0)‡
Control	45	–	9 week	44 (97.8)	45 (100)	45 (100)	38 (84.4)
Nobilis SG9R	45	6 week & 11 week	14 week	2 (4.4)‡	14 (31.1)‡	24 (53.3)‡	6 (13.3)‡
9R VAC	45	6 week & 11 week	14 week	4 (8.9)‡	12 (26.7)‡	26 (57.8)‡	6 (13.3)‡
BNP SG9R	45	6 week & 11 week	14 week	1 (2.2)‡	12 (26.7)‡	23 (51.1)‡	6 (13.3)‡
Control	45	–	14 week	45 (100)	45 (100)	45 (100)	38 (84.4)

*All the chickens were examined for 14 days after vaccination. †Wild-type *S. gallinarum* re-isolation was done in all chickens tested at 14 days after challenge. ‡Vaccinated group was significantly different from the unvaccinated group ($p < 0.05$).

Table 4. Protective efficacy of *S. gallinarum* 9R vaccine at laying chickens in the field trial

Farms	Flock size (×1,000 chickens)	Products	Number of chickens tested	Age at		Number (%) of chickens dead*	Number (%) of chickens with re-isolation from tissue†		
				Vaccination	Challenge		Liver	Spleen	Cecum
KB	60	Nobilis SG9R	20	6 week & 18 week	33 week	4 (20.0)‡	6 (30.0)‡	8 (40.0)‡	2 (10.0)‡
		BNP SG9R	20	6 week & 18 week	33 week	3 (15.0)‡	5 (25.0)‡	10 (50.0)‡	3 (15.0)‡
		Control	20	–	33 week	19 (95.0)	20 (100)	20 (100)	15 (75.0)
BS	36	Nobilis SG9R	20	7 week & 15 week	33 week	6 (30.0)‡	7 (35.0)‡	13 (65.0)‡	7 (35.0)‡
		BNP SG9R	20	7 week & 15 week	33 week	5 (25.0)‡	7 (35.0)‡	14 (70.0)‡	5 (25.0)‡
		Control	20	–	33 week	20 (100)	20 (100)	20 (100)	10 (50.0)
MD	38	Nobilis SG9R	20	7 week & 15 week	33 week	2 (10.0)‡	6 (30.0)‡	8 (40.0)‡	2 (10.0)‡
		BNP SG9R	20	7 week & 15 week	33 week	1 (5.0)‡	6 (30.0)‡	8 (40.0)‡	2 (10.0)‡
		Control	20	–	33 week	19 (95.0)	20 (100)	20 (100)	14 (70.0)

*All the chickens were examined for 14 days after vaccination. †Wild-type *S. gallinarum* re-isolation was done in all chickens tested at 14 days after challenge. ‡Vaccinated group was significantly different from the unvaccinated group ($p < 0.05$).

리율에서도 백신접종군은 시험백신의 종류에 상관없이 백신비접종 대조군와 비교시 유의성있게 낮은 균분리율을 나타내었다(Table 3).

시험백신의 야외 농장에서의 안전성 및 면역원성

시험백신의 야외 농장에서의 효능을 알아보기 위하여, 3곳의 야외농장에 대하여 Nobilis SG9R 및 BNP SG9R 2종의 백신을 농장의 백신프로그램에 맞게 2회 접종 한 후 33주령때 실험실로 운반하여 공격시험을 실시한 결과, 백신비접종군의 폐사율은 95~100%인 반면 두 종류의 백신을 접종한 시험계에서는 농장별로 5~30%의 폐사율만 나타내어 본 백신의 야외 적용시 백신비접종군에 비해 유의성있게 낮은 폐사율을 나타냄을 알 수 있었으며, 실질장기에서의 공격균주 재분리율에서도 백신비접종군의 분리율이 장기별 차이는 있었으나 50~100%임에 반해, 백신접종군에서는 10~65%를 나타내어 백신비접종군과 차이가 있음을 확인할 수 있었다(Table 4). 또한 Nobilis SG9R 및 BNP SG9R 백신 모두 동일한 효능이 확인됨과 아울러 33주령까지 백신접종반응 출현여부, 백신균주에 기인한 폐사발생 여부 및 백신균주에 기인한 임상증상 발현여부를 확인하였으나 특이한 사항은 발견되지 않았다.

고 찰

국내 가금티푸스 발생은 1992년 김 등에 의해 처음으로 보고되었으며 [3], 이후 짧은 기간에 걸쳐 전국적인 발생이 시작되어 주로 산란계에서 심한 피해가 있었으나 최근에는 육용종계에 의한 난계대전염으로 육계에까지 그 피해가 증가하는 추세에 있었다 [16]. 가금티푸

스의 국내 방제를 위하여 사균백신의 개발 [6] 및 보급이 이루어졌으나 이 병의 원인균인 *S. gallinarum* 을 비롯한 살모넬라균의 감염특성인 숙주내 침입시 보균축(carrier) 형성과 저 면역원성 [18], 국내 분리주의 고병원성에 기인하여 효과적인 방제가 이루어지지 못하였다.

오랫동안 양계농가에 경제적인 피해를 입힌 가금티푸스는 2001년에 처음으로 *S. gallinarum* 9R을 이용한 생균백신이 외국계 회사에 의해 수입판매된 이후 그 발생이 급속도로 감소되기 시작하였다. Lee 등 [16]이 1995년부터 2001년까지 국내 가금티푸스 발생에 대한 역학사항을 조사한 보고에 따르면 가금티푸스는 국립수의과학검역원에서 진단되고 있는 조류전염성 질병 중 1995년 4.3%에 불과한 것이 2001년에는 9.8%로 점차 증가하고 있는 것으로 나타났다. 또한 실용산란계, 실용육계 및 종계에서의 가금티푸스 진단율을 비교해 본 결과, 각각 71.4%, 25.0% 및 3.6%로 산란계에서의 발생이 가장 큰 것으로 나타났으나 생균백신이 사용된 2001년부터 산란계에서의 발생율을 급격히 떨어진 것으로 보고되었다.

S. gallinarum 9R 균주는 9S라 불리는 smooth strain에서 유래된 rough strain으로 세포벽의 lipopolysaccharide가 부분적으로 소실하여 *S. gallinarum* 이 가지는 somatic antigen의 특징을 나타내지 못한다 [15, 20]. Lipopolysaccharide의 변화는 *S. gallinarum* 이 가지는 병원성의 저하와 함께 $O_{1,9,12}$의 항원구조를 가지지 않는 것을 특징으로 하며, 따라서 이미 1950년대에 9R 균주를 이용한 백신의 평가가 이루어진 바 있다 [14]. Silva 등 [19]은 *S. gallinarum* 의 야외 강독주가 감수성 닭에 감염시 9R 백신에 의해 폐사율이 급격히 낮아짐을 보고하기도 하였으나 이후 9R 균주에 대한 연구들은 활발히 이루어지지 않고 있었다. 국제수역사무국(OIE)에서는 9R 균주를 백신으로 사용시 8주령에서 16주령 사이에 접종을 권장하고 있으며 국내에서도 6주령 이상의 닭에서의 접종을 허가하고 있으나, 근년에 이르러 Lee 등 [17]은 4주령의 닭에서도 충분한 면역효과와 함께 안전성이 확인됨과 아울러 국내 실용산란계에서의 효능에 대하여 보고한 바 있다.

Gast 등 [13]은 사균백신보다 생균백신이 *Salmonella* 의 감염예방에 높은 방어효과를 나타냄을 보고하였는데 이는 사균백신은 *Salmonella*의 intestinal coloniazation은 충분히 막을 수 없기 때문인 것으로 보고하였으며 이러한 이유로 *S. gallinarum* 9R 균주를 이용한 생균백신이 국내에 소개되어 사용된 이후에서야 산란계에서의 가금티푸스 발생은 급격히 감소하였으며 국내 업계도 본 균주를 이용한 생균백신 생산을 시작하기에 이르렀다. *S. gallinarum* 9R 균주는 전세계적으로 특허되어 있지 않은 상황이며 따라서 국내 업계에서는 외국의 주요 연구기관에서 본 균주를 분양받아 백신을 생산하였고 현재 3개의 국내기업에서 백신을 생산, 시판하고 있으며 또한 1개의 기업에서 현재 생산을 준비중에 있다. 앞서 말한 바와 같이, 현재 *S. gallinarum* 9R 균주는 특허등록이 되어있지 않은 관계로 본 균주를 이용한 백신의 생산은 의외로 자유로운 반면 국내 시판을 위해서는 매번 실험실적인 안전성과 효능 및 국내 야외농장에 대한 안전성 및 효능평가가 동시에 실시되어야 한다. 본 연구는 앞으로도 지속적으로 본 균주를 이용한 백신이 생산될 가능성이 큼에 따라 현재 국내에서 판매되고 있거나 시판을 준비중인 백신을 대상으로 균주의 특성과 더불어 안전성 및 효능을 재평가해보고자 실시되었다. 시험결과, 동일한 균주라 하더라도 계대횟수 등 균주의 성상에 영향을 줄 수 있는 여러 소인들이 있음에도 불구하고 3곳의 제조회사 유래 *S. gallinarum* 9R 균주 모두 동일한 생화학적 및 생물학적 성상과 아울러 PFGE에서 야외분리주와는 뚜렷히 구분되는 동일한 패턴을 보였다.

동일한 균주를 바탕으로 외국 및 국내 기업에서 생산하고 있는 백신이 혼합되어 시판되고 있는 국내 상황에서 이들 백신의 효능에 대하여 야외농장에서는 다양한 평가들이 이루어지고 있었으나 정작 과학적인 성적은 아직까지 보고된 바 없기에 본 성적은 이들 백신에 대한 객관적인 효능평가 자료로 충분하다고 판단되며, 백신균주와 야외 분리주의 생물학적 및 유전학적 차이는 백신균주의 병원성 복귀 등 균주의 변이가 발생시 중요한 참고자료가 될 것으로 생각된다.

결 론

국내 실용산란계 농장에서 현재 사용되고 있거나 시판을 준비하고 있는 *S. gallinarum* 9R 생균백신을 대상으로 균주의 특성, 실험실적 및 야외농장에서의 안전성 및 면역원성을 비교, 조사해본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Nobilis SG9R, 9R VAC 및 BNP SG9R에서 분리한 *S. gallinarum* 9R 균주 모두 동일한 생화학적, 혈청학적 특성 및 PFGE 패턴을 나타내었으며, 표준 및 야외 강독형의 *S. gallinarum* 균주들과는 rhmnose 분해능, *Salmonella* group D_1 항혈청과의 응집능 및 PFGE에서 뚜렷한 차이를 나타내었다.

2. 시험백신들의 실험실내 안전성 및 면역원성을 조사한 결과, 백신의 종류에 상관없이 1수분 용량 및 10수분 용량 접종 모두에서 안전성이 확인되었으며, 또한 백신비접종 대조군과 비교시 유의성있게 낮은 폐사율과 공격균주 분리율을 나타내었다.

3. Nobilis SG9R 및 BNP SG9R의 야외 농장에서의

안전성 및 면역원성을 조사한 결과, 백신의 종류에 상관없이 33주령까지 백신접종반응, 백신균주에 기인한 폐사발생 및 백신균주에 기인한 임상증상이 발견되지 않았으며, 백신비접종 대조군에 비해 유의성있게 낮은 폐사율과 공격균주 분리율을 나타내어 뚜렷한 방어효과를 확인할 수 있었다.

참고문헌

1. **김기석, 모인필, 우용구, 이희수, 권용국, 권준헌, 성환우, 송창선, 김재홍, 권혁만.** 가금질병검색 및 역학조사. 수의과학연구소 시험연구보고서. pp. 319-328, 농촌진흥청, 수원, 1994.
2. **김기석, 모인필, 이희수, 우용구, 권용구, 김재홍, 권준헌, 김상희, 권혁만.** 국내 가금 질병 발생 및 역학조사. 가축위생연구소 시험연구보고서. pp. 325-334, 농촌진흥청, 수원, 1993.
3. **김기석, 이희수, 모인필, 김순재.** 국내 닭에서의 가금티푸스(Fowl typhoid) 발생. 농진청 농업논문집 1995, **37**, 544-549.
4. **김영환, 김경희, 우용구, 장영술, 조민희, 김수응.** 경북지방유래 추백리 양성계에서의 균분리 및 혈청역가 추이. 한국가축위생학회지 1997, **20**, 19-26.
5. **김원용, 장영효, 박경윤, 김철중, 신광순, 박용하.** 가금에서 분리한 *Salmonella*속 균의 항균물질에 대한 감수성 및 plasmid profile. 대한수의학회지 1995, **35**, 537-524.
6. **류재윤, 전무형, 장경수, 손현수, 곽학구, 박경재, 우용구.** 추백리 혈청검사 양성 산란계로부터 *Salmonella* 속균 분리. 한국가축위생학회지 1999, **22**, 221-237.
7. **이영주, 강민수, 우용구, 모인필, 김재학.** 가금티푸스 및 파라티푸스 예방효과 증진에 관한 연구. 국립수의과학검역원 2000년 연구보고서. pp. 469-478, 국립수의과학검역원, 안양, 2000.
8. **이희수, 김기석, 우용구, 모인필, 권용국, 권준헌, 남궁선, 김순재, 심재국.** 국내 분리주 *S. gallinarum*의 닭에 대한 병원성 및 면역원성에 관한 연구. 수의과학연구소 시험연구보고서. pp. 329-344, 농촌진흥청, 수원, 1994.
9. **Barrow PA, Huggins MB, Lovell MA.** Host specificity of *Salmonella* infection in chickens and mice is expressed *in vivo* primarily at the level of the reticuloendothelial system. Infect Immun 1994, **62**, 4602-4610.
10. **Centers for Disease Control and Prevention.** Standardized Molecular Subtyping of Foodborne Bacterial Pathogens by Pulsed-Field Gel Electrophoresis: A Manual. National Center for Infectious Disease, Atlanta, 2004.
11. **Christensen JP, Olsen JE, Hansen HC, Bisgaard M.** Characterization of *Salmonella enterica* serovar *gallinarum* biovars *gallinarum* and *pullorum* by plasmid profiling and biochemical analysis. Avain Pathol 1992, **21**, 461-470.
12. **Edwards PR, Ewing WH.** Edwards and Ewing's Identification of *Enterobacteriaceae*. 4th ed. pp. 181-245, Elsevier, New York, 1986.
13. **Gast RK, Stone HD, Holt PS.** Evaluation of the efficacy of oil-emulsion bacterins for reducing fecal shedding of *Salmonella enteritidis* by laying hens. Avain Dis 1993, **37**, 1085-1091.
14. **Gordon RF, Garside JS, Tucker JF.** The use of living attenuated vaccines in the control of fowl typhoid. Vet Rec 1959, **71**, 300-305.
15. **Gupta BR, Mallick BB.** Immunization against fowl typhoid. 1. Live oral vaccine. Indian J Anim Sci 1976, **46**, 502-505.
16. **Lee YJ, Kim KS, Kwon YK, Kang MS, Mo IP, Kim JH, Tak RB.** Prevalent characteristics of fowl typhoid in Korea. J Vet Clin 2003, **20**, 155-158.
17. **Lee YJ, Mo IP, Kang MS.** Safety and efficacy of *Salmonella gallinarum* 9R vaccine in young laying chickens. Avian Pathol 2005, **34**, 362-366.
18. **Shivaprasad HL.** Pullorum disease and fowl typhoid. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM (eds.). Diseases of Poultry. 10th ed. pp. 82-96, Iowa State Press, Ames, 1997.
19. **Silva EN, Snoeyenbos GH, Weinack OM, Smyser CF.** Studies on the use of 9R strain of *Salmonella gallinarum* as a vaccine in chickens. Avian Dis 1981, **25**, 38-52.
20. **Smith IM.** Protection against experimental fowl typhoid by vaccination with strain 9R reconstituted from the freeze-dried state. J Comp Pathol 1969, **79**, 197-205.