

뉴캐슬병 B₁ 생독백신의 효능비교

정만호 · 강춘원 · 노용기 · 박진열
전남 가축위생시험소

Comparison of Efficacy of Newcastle Disease Virus B₁ Vaccine by Different Administration Method in Commercial Layer Chickens

Man-Ho Chung, Chun-Won Kang, Young-Ki No and Jin-Yeal Park

Jeonnam Veterinary Service Laboratory

Abstract

The immune responses of commercial layer chickens against Newcastle disease(ND) were compared among different administration methods and times of vaccination during 4 weeks of age. A total of 372 day-old chickens were divided into 4 groups of 93 birds each. Each of 3 groups was received a commercially available B₁ live vaccine via drinking water, eye instillation or spray method at one, 14 and 28 days of age. One group was used as an unvaccinated control. At two and 4 weeks after each time of vaccination, 15 birds from each group were collected randomly out and challenged with virulent ND virus at the dose of 10⁸EID₅₀ per bird. Ten to 15 birds from each group were bled at two weeks intervals from day old to 8 weeks of age for hemagglutination inhibition antibody titer. The protection rate was generally low regardless of the times of vaccination although two or more times vaccination gave higher protection than once vaccination. The low protection was considered due to low titer of the vaccine used since the vaccine titer was less than 10³ · 5EID₅₀ per bird.

Spray method gave better protection compared to eye instillation or drinking water method which resulted in lowest response. Majority of birds showed clinical signs of ND between 3 and 6 days after challenge. Death occurred one or two days after onset of symptoms. Major clinical signs observed were depression(94%), anorexia(84%), diarrhoea(29%), difficult breath(15%) and torticollis(10%).

Hemorrhagic lesions on post mortem were seen in duodenum(51%), trachea(36%), ileum(13%), ceecal tonsil(11%), proventriculus(10%) and some other organs.

서론

우리나라는 뉴캐슬병의 상재지로서 거의 매년 발생하고 있으며 최근 1988년 부터 금년 초까지 전국적으로 발생하여 육계나 산란계나 할것없이 상당한 피해를 주고 있다. 뉴캐슬병 바이러스는 아직까지는 한가지 혈청형으로 알려져 있기 때문에 시중에 나와있는 생독이나 사독백신을 권장하는 프로그램대로 접종할 경우 뉴캐슬병 발생을 효과적으로 예방할 수 있어야 한다. 그러나 최근

야외에서 백신접종을 했는데도 뉴캐슬병이 발생한다는 보고들이 간혹 나오고 있기 때문에 우리나라에 권장하고 있는 생독백신 접종프로그램을 그대로 실시하였을 경우 실용계에서 어느정도 방어능과 항체반응을 나타내는지 조사할 필요를 느껴서 본 실험을 실시하였다. 실제로 우리나라에서 권장하는 프로그램이 실험실이나 야외실험 성적의 뒷받침은 미약한 편이며 일본에서 권장하고 있는 방법(吉田勳 1982)과 유사하다. 즉 뉴캐슬병 발생의 위험도가 높은 지역에서 생독을 사용할 경우

기초접종으로 1차 1~4일령, 2차 2주령, 3차 4주령에 실시하고 보강접종으로 4차를 2개월령에 다음 2~3개월 간격으로 접종하도록 권장하고 있다. 본 실험에서는 야외에서 뉴캐슬병이 산란계에도 문제지만 육용계에서 더욱 문제가 되기 때문에 실용 육용계 생육기간인 8주령까지 생독 B₁ 백신을 3차까지 접종할 경우 면역능력을 검사하고자 접종방법을 달리하여 8주령까지 그 효능을 비교하였다.

재료 및 방법

병아리 : 1일령 병아리는 갈색산란계로서 대형산란계 부화장에서 구입하여 사용하였다.

바이러스 : 백신주로 B₁주는 국내제조회사에서 제조한 B₁ 백신으로서 바이엘제품(lot. No 69유생 07) 같은 lot를 일시에 구입하여 -20℃에 보관하면서 사용하였다. 공격주로는 교정원주는 안양 가축위생연구소에서 분양받아 전남대학교에서 계대보관한 것을 사용하였다.

백신접종 : 음수접종방법은 백신을 1% skim milk를 함유한 지하수에 희석하였다. 1차, 2차는 수당 10ml에 1수분의 백신이 함유하도록 희석하였으며 3차 접종시는 수당 20ml에 1수분이 함유되도록 희석하였다. 2차 접종시를 제외하고는 백신접종 전 1.5시간 정도 절수시킨 후 음수통을 깨끗이 세척한 후 백신을 공급하였다. 음수백신은 3시간 이내에 모두 소비되었으며, 2차 접종시는 착오로 인해 절수시키지 않았기 때문에 음수백신 소모시간이 5시간이상 걸렸다.

점안접종은 백신을 증류수 25μl에 1수분이 함유되도록 희석하여 한쪽 눈에 25μl씩 dropper로 접종하였다. 분무접종은 skim milk 1%로 포함된 증류수 2~3ml에 바이러스를 1수분 들어가도록 희석하여 소형 플라스틱 분무기(총량 1l)를 사용하여 병아리의 1m 높이에서 분무하였다.

공격접종 : 교정원을 1수당 10⁶EID₅₀씩 대퇴부 근육내(0.2ml)에 접종하였다.

혈구응집억제반응(HI test) : 각각의 혈청을 한대모아 일시에 실시하였으며 HI test는 최등(1988)의 방법에 준하였다.

시험설계 및 닭의 사양 : 1일령 병아리 372수를 93수씩 4군으로 나눈 후 음수, 점안, 분무등의

접종방법에 따라 1일령에 각 1군씩 1차 백신접종을 실시하고 나머지 군은 백신접종을 하지 않는 대조군으로 하여 각 군을 구분해서 따로 사육하였다. 14일령때 각 군에서 30수씩 꺼내어 반수인 15수는 공격접종하고 다른 15수는 4주령 때 공격접종하기 위해서 별도 사용하였다. 각군에 남은 63수는 음수, 점안, 분무로 각각 2차 접종을 실시하였으며 대조군 163수는 그대로 사육하였다. 28일령 때 각 군에서 30수씩 꺼내어 반수는 공격접종하고 다른 반수는 2주후에 다시 공격접종하기 위해 별도 사용하였다. 각 군에 나머지 33수는 음수, 점안, 분무방법으로 각각 3차 백신접종을 실시하였으며 대조 33수는 그대로 사육하였다. 42일령 때 3차 접종한 각군 33수 중 15수를 공격접종하고 나머지는 56일령 때 공격접종하였다. 공격접종한 닭들은 별도로 격리 계사에 같이 수용하여 사육하면서 뉴캐슬병 발생유무와 폐사유무를 2주간 관찰하였으며 폐사계는 부검하여 병변 유무를 확인하였다. 매 공격접종할 때마다 각 군에서 9~20수씩 무작위로 선발하여 1~2ml씩 채혈, 혈청을 분리한 후 HI 항체가의 검사를 위하여 -20℃에 보관하였다.

바이러스역가 검사 : 백신바이러스와 공격용바이러스는 10배수 희석하여 희석배수별로 NDV 항체가 없는 10일령의 발육난 5개씩 접종하여 5일간 관찰하고 노막강액에서 혈구응집능 유무를 기준으로 50% 발육난감염량(EID₅₀)을 산출하였다.

결 과

바이러스역가 : B₁ 백신바이러스의 역가는 10^{4.5}EID₅₀이었다.

HI 항체가 : 백신접종군이나 비접종대조군의 HI 항체가는 표 1과 같다. 1일령때 log₂로 6.4의 모체 이행항체를 보유하고 있었으며 비접종대조군에서는 2주령때 1.8, 4주령때 0.9로 하강하다가 6주부터 약간 상승하는 양상을 보여주었다. 대체적으로 백신접종의 횟수나 방법에는 상관없이 대조군에 비해서 뚜렷한 항체가의 상승을 가져오지 않았다. 단지 1일령에 1회 접종한 군에서는 2주령때 비접종군에 비해서 음수, 점안, 분무 각각 1.6, 0.7, 1.5씩 상승하였으며 1일령때 1회 분무

Table 1. Hemagglutination inhibition(HI) antibody titers to Newcastle disease virus in chickens vaccinated with B₁ strain by different methods

Vaccination		Age in weeks	No. of samples	Mean HI	Antibody titer (log ₂ ±SD)
Methods	Times*				
Water	1	2	10		3.3±1.1
	1	4	15		2.1±1.2
	2	4	15		1.5±1.3
	2	6	15		0.6±0.5
	3	6	15		1.7±1.5
	3	8	19		1.6±1.8
Eye instillation	1	2	9		2.5±1.5
	1	4	15		1.2±0.8
	2	4	15		1.5±0.6
	2	6	15		0.3±0.6
	3	6	15		1.7±1.4
	3	8	19		2.6±1.1
Spray	1	2	10		3.4±1.2
	1	4	15		4.9±2.2
	2	4	15		1.6±1.0
	2	6	15		2.1±1.5
	3	6	15		2.8±2.0
	3	8	20		1.3±1.2
Nonvaccinated control		0	22		6.4±1.0
		2	15		1.8±1.0
		4	15		0.9±0.6
		6	15		1.3±1.5
		8	15		1.6±1.4

* 1, 2, 3 : Vaccinated at one, 14 and 28 days of age, respectively

접종한 계군에서만 4주령때의 HI가 대조군보다 뚜렷이 더 높은(평균 4.0) 이상현상을 나타냈다.

방어율 : 방어율은 공격접종 후 폐사율(표 2)과 임상증상(표 3)을 기준으로 하여 각각 따로 산출해 보았다. 폐사율을 기준으로 했을때 1차 백신접종의 경우 음수, 점안, 분무 어느 경우도 2주후에 유의성있는 방어율을 나타내지 않았으며 4주후에는 점안접종군만이 유의성있는 방어율을 나타냈다. 2차, 3차 접종의 경우 최종 접종 2주후의 방어율은 음수, 점안, 분무 모두 유의성있는 방어율을 나타냈으나 접종 4주후에는 분무접종군만이 유의성있는 방어율을 보여주었다.

임상증상발현까지를 기준으로 하여 방어율을

산출할 경우 1회 백신 접종으로는 어떤 접종 방법도 4주간동안 효과적인 방어율을 가져오지 않았으며 음수나 점안 접종의 경우 2회나 3회 접종하여도 유의성있는 방어율을 보여주지 않았다. 분무접종군만이 2회나 3회 접종한 경우 4주까지 유의성있는 방어율을 나타냈다.

공격접종후 임상증상발현 시기는 백신접종군이나 비접종군이나 비슷한 유형을 보였다(표 4). 접종후 빠른 경우 2일부터 나타나 3일에서 6일 사이에 집중적으로 임상증상이 출현하였으며 7일후부터는 관찰기간 14일령까지 산발적으로 한두 마리씩 출현하였다. 폐사는 공격접종후 3일째부터 나타나 5일째에 최고 폐사율을 보였으며 7일째까

Table 2. Hemagglutination inhibition(HI) antibody titers to Newcastle disease virus in chickens vaccinated with B₁ strain by different methods

Vaccination Times	Vaccination Methods	Age (weeks)	Weeks after vaccination	No. of birds challenged	No. of birds dead (%)	Protection rate (%)
1	Water	2	2	15	7(46.7)	0
	Eye	2	2	15	3(20.0)	57.2
	Spray	2	2	15	6(40.0)	14.3
	Control	2	2	15	7(46.7)	0
	Water	4	4	15	9(60.0)	30.8
	Eye	4	4	15	5(33.3)	61.6
	Spray	4	4	15	10(66.7)	23.1
	Control	4	4	15	13(86.7)	0
2	Water	4	2	15	1(6.7)	88.8
	Eye	4	2	15	1(6.7)	88.8
	Spray	4	2	15	0(0.0)	100
	Control	4	2	15	9(60.0)	0
	Water	6	4	15	9(60.0)	18.1
	Eye	6	4	15	13(86.7)	-18.3
	Spray	6	4	15	4(26.7)	63.6
	Control	6	4	15	11(73.3)	0
3	Water	6	2	15	4(26.7)	60.0
	Eye	6	2	15	4(26.7)	60.0
	Spray	6	2	15	1(6.7)	90.0
	Control	6	2	15	10(66.7)	0
	Water	8	4	19	6(31.6)	36.8
	Eye	8	4	18	10(55.6)	-11.2
	Spray	8	4	19	1(5.3)	89.4
	Control	8	4	16	8(50.0)	0

지 높은 폐사율을 보이다가 8일째부터는 현저히 감소하였다. 임상증상은 대부분 원기저하, 기면, 식욕저하 증상을 보였고(표 5), 26.5%에서 설사, 15%에서 호흡곤란 증상을 보였다. 10%에서 사경을 나타냈으며 기타 일부에서 신경증상을 나타냈다. 부검소견은 여러 장기에서 출혈반을 나타냈는데 폐사한 닭이나 임상증상을 보인 닭의 51%에서 십이지장 출혈반을 보였고 다음 기관점막(36%), 회장부위(13%), 맹장기시부(11%)의 순이었다. 약 10%의 부검닭에서 선위 출혈반을 보였으며 심장 관상동맥 주변의 지방 조직에서는 약 2%의 부검계에서만 출혈반이 나타났다.

고 찰

B₁ 바이러스처럼 병원성이 약한 생독 백신의 경우 효과적인 방어능을 가져오기 위해서는 1수당 바이러스 함유량이 10⁵EID₅₀ (Box등 1976) 또는 10⁷EID₅₀이상 (Allan등 1978)이어야 한다. 우리나라 검정 규정에도 최소한 10⁵EID₅₀이상이어야 한다 (Anon 1972). 그러나 본 시험에 사용한 백신은 바이러스 함유량이 10⁴ * 5EID₅₀이하로서 기준이하의 함유를 가진 백신이었다. 그러므로 혈청의 HI 역가나 방어율이 전반적으로 높지 못한 결과를 가져온 것으로 여겨진다.

Table 3. Protection rate based on clinical signs against Newcastle disease in chickens vaccinated with B₁ strain by different methods

Vaccination Times	Vaccination Methods	Age (weeks)	Weeks after vaccination	No. of birds challenged	No. of birds showing signs or dead (%)	Protection rate (%)
1	Water	2	2	15	8(53.3)	-14.1
	Eye	2	2	15	6(40.0)	14.3
	Spray	2	2	15	8(53.3)	-14.1
	Control	2	2	15	7(46.7)	0
	Water	4	4	15	13(86.7)	13.3
	Eye	4	4	15	12(80.0)	20.0
	Spray	4	4	15	13(86.7)	13.3
	Control	4	4	15	15(100)	0
2	Water	4	2	15	7(46.7)	30.0
	Eye	4	2	15	6(40.0)	40.0
	Spray	4	2	15	3(20.0)	70.0
	Control	4	2	15	10(66.7)	0
	Water	6	4	15	10(66.7)	28.5
	Eye	6	4	15	13(86.7)	7.1
	Spray	6	4	15	4(26.7)	71.4
	Control	6	4	15	14(93.3)	0
3	Water	6	2	15	11(73.3)	0
	Eye	6	2	15	6(40.0)	45.4
	Spray	6	2	15	2(13.3)	81.9
	Control	6	2	15	11(73.3)	0
	Water	8	4	19	8(42.1)	32.6
	Eye	8	4	18	13(72.2)	-15.5
	Spray	8	4	19	5(26.3)	57.9
	Control	8	4	16	10(62.5)	0

1일령때 1회 백신 접종은 접종 방법에 상관없이 백신 접종하지 않은 대조군과 HI가나 방어율에서 차이를 보이지 않았다. 2회 및 3회 접종시에는 1회 접종시보다는 전반적으로 높아졌으나 분무접종을 제외하고는 유의성있는 방어율을 보이지 않았다. 음수접종에 비해서는 점안 접종이 성적이 높았으나 3가지 방법 중 분무접종이 가장 좋은 성적을 보여주었다. 음수나 점안접종에서 접종횟수에 따른 뚜렷한 방어율이나 HI 항체가 상승을 보이지 않는 것은 백신 바이러스 함량이 매우 낮기 때문에 면역 booster 효과가 거의 나타나지 못한 것으로 여겨진다.

공격 바이러스 함량이 다소 높았기 때문에 낮은 방어율을 가져온 것으로 여길 수도 있으나 공격 접종량은 최등(1988)이 시험에 사용한 양과 비슷한 것으로서 그 성적에서는 시험구에 따라 100% 방어율을 나타내고 있는 것으로 보아 공격접종량이 높기 때문만으로는 생각하기 어렵다. 백신접종하지 않은 대조군의 경우 공격접종에 대해 2주령때만 100% 폐사하고 4주, 6주, 8주령때는 63%에서 93% 폐사율을 보인 것은 각 계군을 따로 따로 격리 수용하여 백신 바이러스가 계군간에 전파하는 것을 방지하도록 관리하였다고 하나 백신 접종군에서 백신 바이러스가 대조군으로

Table 4. Daily clinical signs and death of vaccinated birds after challenge with virulent NDV

Group	No. of birds	No. of birds with clinical signs(death) after challenge in days													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Nonvaccinated control	91	1	14	27	12	6	3	1					2	1	67
Water	94			(8)	(27)	(13)	(5)	(1)	(1)	(1)	(1)			(2)	(58)
		15	14	12	9	2						2	3	57	
		(2)	(4)	(16)	(4)	(4)	(4)				(2)		(2)	(34)	
Eye	93														
		9	16	16	7	2					1	1	4	56	
		(1)	(3)	(11)	(18)	(2)							(1)	(36)	
Spray	94														
		1	3	12	8	6				3	1	1	1	35	
		(2)	(3)	(6)	(4)	(4)	(4)			(3)			(22)		

오염되었던 것으로 여겨진다. 6주, 8주 때 대조군에서 HI 항체가 다소 증가하는 것으로도 이를 알 수 있다.

Table 5. Clinical signs shown in chickens challenged with virulent Newcastle Disease virus

Clinical signs	No. of birds*	%
Depression	206	95.8
Drowsy	193	89.7
Anorexia	118	84.1
Diarrhea	57	26.5
Dyspnea	32	14.8
Torticollis	22	10.2
Lameness	18	8.3
Opisthotonus	12	5.5
Circling	8	3.7

* Figures are out of the total 215 birds showing clinical signs

Table 6. Hemorrhagic lesions on postmortem of chickens dead or showing clinical signs after challenge with virulent NDV

Organs	No. of birds	%
Trachea	77	35.8
Proventriculus	49	9.7
Gizzard	4	1.8
Fat on heart	4	1.8
Cecal tonsil	24	11.1
Duodenum	110	51.1
Ileum	28	13.0
Other(Spleen swelling)	10	4.6

* Figures are out of the total 215 birds

이 시험성적은 야외에서 실용계에 백신 접종을 권장 프로그램대로 실시하더라도 높은 농도로 강독 바이러스에 노출될 경우 뉴캐슬병이 발병할 수 있다는 것을 말해준다. 더구나 백신의 함량이 낮을 경우 음수 접종을 8주령이내에 여러번 접종 하더라도 만족할만한 방어율을 기대할 수 없다는 것을 보여준다. 백신의 역가가 낮은 이유는 수송 과정이나 보관 과정에서 낮아졌는지 제조 당시부터 낮아졌는지는 알 수 없으나 각 과정에서 백신의 역가가 낮아지지 않도록 최선을 다해야 하겠다.

결 론

실용 산란계 병아리에 대해서 시중에서 유통되고 있는 B₁ 생독뉴캐슬병 백신의 효능을 접종방법과 접종회수를 달리하여 비교하였다. 실용산란계 372수를 93수씩 4군으로 나눈 후 3군에 대해서는 각각 음수, 점안, 분무방법으로 28일령까지 3회에 걸쳐 백신을 접종하였고 나머지 1군은 백신을 접종하지 않은 대조군으로 하였다. 매회 백신접종 2주, 4주 후에 강독 바이러스로 공격 접종하여 방어율을 조사하고 2주 간격으로 채혈하여 혈구응집억제(HI) 항체가를 조사하였다. 방어율은 1일령에 1회 접종하는 것보다 2회 또는 3회 접종하는 것이 높았으나 2회, 3회간에는 큰 차이가 없었다. 접종방법간에는 분무방법이 2회이상 접종할 경우 방어율이 높았으며 다음은 점안, 음수 순이었다. 백신을 2회 또는 3회 접종하여도 HI 항체가는 대조군에 비해 크게 상승하지 않았다. 전반적으로 방어율이 낮은 것은 백신의 역가가 낮기 때문으로 생각되었다. 공격접종후 뉴캐슬병 임상증상 발현 및 폐사는 3~6일 사이에 최고에 달했으며 7일후부터는 현저히 감소하여 관찰기간 14일까지 산발적으로 발생하였다. 임상증상은 84% 이상에서 원기저하, 식욕절폐등을 보였고 27%에서 설사증, 15%에서 호흡기, 10%에서는 사경등이 보였다. 부검소견상 출혈반은 십이지장(51%), 기관(36%), 회장

(13%), 맹장편도(11%), 선위(10%) 순으로 관찰되었다.

참고문헌

1. Alan W.H., J.E. Lancaster and B. Toth. 1978. Newcastle disease vaccine. FAO Animal Product and Health Series No.10.
2. Aron. 1972. 동물용 생물학적 제제 편람 : 농촌진흥청. 가축위생연구소. pp.60-64.
3. Box. P.G., I.G.S. Furmiger, W.W. Robertson and D. Warder. 1976. The effect of Marek's disease vaccination on the immunisation of day-old chicken against Newcastle disease, using B₁ and oil emulsion vaccine. Avian pathology. 5 : 299-305.
4. Sambeg, Y., K. Hornstein, E. cuperstein and Rivka Gcttfriend. 1977. Spray vaccination of chickens with an experimental vaccine against Newcastle disease. Avian Pathology. 6 : 251-258.
5. 崔昌鈺, 朴承柱, 魏聖河. 1988. 肉用鷄 初生雛에 대한 뉴캐슬병 生毒 및 死毒 백신의 同時接種效果. K. J. Poul. Sci. 15 : 193-198.
6. 吉田 勳. 1982. ニュカツスル病. 鷄病診斷, 堀内貞治編. pp.21-46.