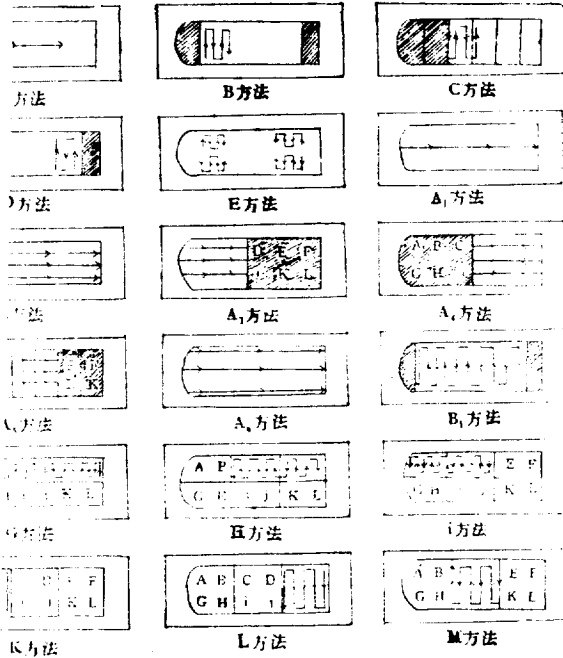


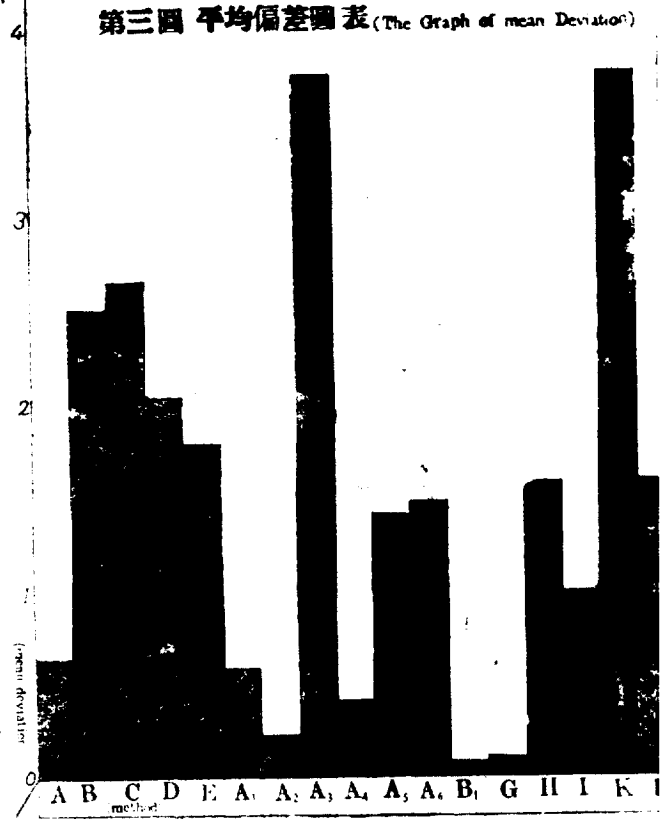
(第1圖)



(第2圖)



第三圖 平均偏差圖表 (The Graph of mean Deviation)



### 鷄痘豫防藥의 實驗的研究

家畜衛生研究所(當時 所長李昌熙)

林 永 文      邊 恩 受

#### I 緒 言

Fowl Pox(以下 F.Pox로 記入함)는 Chicken의 主要한 傳染病의 하나로서 우리나라는 近年에 이르러 本病의 常在地帶가 되어 每年 그被害는 莫大하다. 그동안 輸入되는 少數의外國產 F.Pox vaccine이 一部分의 養鷄家에 依하여 應用되어있다. 外國에서도 오래前부터 本病에 對한 Vaccine을 製造應用하여있든 것이며 其 Vaccine製造方式에 있어서도 各가지가 記載되었다. 卽 F.Pox Virus로 Chicken을 感染시켜서 그感染皮膚로만든것 或은 F.Pox Virus로 Pigeon에 感染시켜서 그皮膚로만든等이 있는데 1931年 Woodruff 및 Coodpasture<sup>(1)</sup>가 F.Pox Virus를 孵化鷄卵 Chorioallantoic membrane(以下 C.A.M이라고 記述함)上에 처음으로 培養한以來 現代까지 發育鷄卵은 Virus培養에 應範圍하게 應用되는것은 周知의 事實이다. 1939年 Brandly<sup>(2)</sup>도 C.A.M上에 Virus를 培養하여 Vaccine을 生産함에 應用하였고 그로因하여 Vaccine製造도 鷄體 및 鳩體, 發育鷄卵應用으로 變遷하였다. 取扱되는 Strain도 어떠한 變化를주지 않은 純粹한 F.Pox Virus를 利用한것 或은 生物學的으로 變性을이르킨 弱毒을 利用한것等이

있고 接種方法에도 Wing-web method(Stick method), Feather follicle method, Brush method 皮下注射等 여러가지가記載되어있다. 1939年 Brandly 및 Dunlap(1) 등은 F.Pox Virus를 C. A.M.에 68代繼代에서도 Virus의 弱화를 보지못하였고 1934年 Thorning, Graham, Levine(4) 등도 F.Pox Virus를 C.A.M.에 培養하여 卵全體를 利用하였다. 同時에 卵全體에 對하여 Virus의 分布를 調査한바 C.A.M가 가장 Titer가 높고 적은것은 Yolk sac, Embryo의 順位라고하였지만 그래도 全卵混合의 Titer는  $10^{-4}$ 까지였다고하였다. 1954年 Sabben(5)은 F. Pox Virus를 C.A.M.에 培養하여 Whole embryo vaccine을 製造하였고 그方式은 1/4의 Saline Solution을 加하여 乾燥하되 Wing-web method로 Vaccination한結果는 98%의 發痘率을보였고 그 Titer는 Chicken에 對하여 通常 $10^{-4}$ 이었으며 免疫도 7個月間繼續되었다고 하였다. F.Pox Virus로서 만드러진 Vaccine의 應用은 Wing-web method로 接種되기때문에 相當히 便利하고 免疫期間이 長期間인것等 여러가지 長點이 있지만 幼鷄, 衰弱鷄, 産卵期等은 避하여야되고 特히 Virus의 散布의 危險性을 嚴重히注意하고 있는點은 Pitman-More Co.(6)나 Fort Dodge(7)의 印刷物을 보아도 危險性이 內包되고 있다는것은 事實이다. Pigeon Pox Virus(以下 P.Pox Vaccine이라고 記入함)로 만든 Vaccine은 어느條件下에 있는 닭이라할지라도 安心하고 使用할수있는 것이지만 免疫期間이 짧고, 接種은 大部分 Feather follicle method를 應用하는故로 時間的損失도 많다. 그런故로 理想적인 Pox Vaccine은 原則적으로 人痘對牛痘와 같은것이라야 될것이며 痘毒 그대로를 使用한다는것은 再考할餘地가 있다고 본다. 1621年 Beach(8)은 F.Pox豫防에 乾燥한 減毒毒을 應用하였고 1922年 Boerner 및 Stubbs(9) 등은 Beach가 應用製造한 F.Pox Vaccine을 追試하여 再考의 餘地가 있다고 하였다. 1927年 Doyle 및 Minnett(10)은 Small Pox 接種鷄는 F.Pox의 感染을 막지 못하였으나 P. Pox Virus 接種鷄는 F.Pox의 感染을 막어내는 故로 이 두가지 毒은 免疫學的으로 區別할수 없다고하여 P.Pox Virus의 應用을 暗示하였다. 1930年 Doyle(11)은 乾燥한 P.Pox Virus를 가지고 F.Pox 防禦實驗을 하여 Vaccination後 14만에 自然感染을 完全阻止하였다고 하며 P.Pox Virus를 應用할것을 推薦하였다. 1931年 Johnson(12)도 F.Pox Virus보다는 P.Pox Virus를 應用할것을 暗示하였고 同年 Michael(13)도 F.Pox Vaccine과 P.Pox Vaccine을 比較實驗한 結果 F.Pox Vaccine이 大端히 良好하였지만 P.Pox Vaccine도 良好한 成績이었다고 하였다. 1943年 Akazawa(14)는 F. Pox의 豫防에 對하여 F.Pox 感染鷄의 Comb의 Scab로 Vaccine을 製造하여 減毒하되 皮下注射로서 實驗한結果 좋은 成績을 얻었고 P.Pox Virus를 利用하여 만든 Vaccine은 1:50에서도 (皮下注射0.5cc) 60% 防禦力밖에 能力이 없고 1:100에서는 全然防禦치 못한다고 하였다. 1933年 Kawasima(15)는 P.Pox Virus를 鷄體에 馴化 및 F.Pox Virus를 Pigeon에 馴化함에 成功하였고 馴化過程에 있는 F.Pox Virus를 鷄體에 接種하여도 惡性的인 F.Pox化가 되지 않고 一過性的 發痘로서 耐過하며 F.Pox를 防禦하여 免疫學的으로도 一致한다고하였다. 日本生物科學研究所(16)에서는 P.Pox Virus를 C.A.M에 長期繼代함으로서도 이런것을 얻을수가 있다는 것을 말하고 있다. 同研究所는 1951년부터 이러한 Strain을 가지고 Vaccine을 生産하고 있다. 우리나라에서도 同一한 Strain을 가지고 實驗하고자 1953年 同研究所에서 Nakano Strain(原祖는 Kawasima)을 分讓받아있다. 其經歷은 P.Pox Virus인 Nakano Strain을 C.A.M上

제 102대까지 連續적으로 繼代를 하고 Pigeon의 皮膚에 8代, 다시 Fowl皮膚에 7-10代 繼代하여 再次 C.A.M.上에 2-3代 繼代한것 卽 P.Pox Virus→E.102→P.8→F.7-10→E.2-3 등의 過程을 밟은것을 Seed Virus로하여 이것을 鷄鳩痘中間毒이라고 名稱을 부쳤다. 本 Virus는 닭에 接種하였을때에는 一過性的 發痘로 고치고 惡性化함이 없이 F.Pox에 對하여 免疫性を 준다고하였다. 其免疫性は 實驗結果 4個月이라하였다. 1954年 Takamatsu外2名<sup>(17)</sup>은 同研究所生産의 F.Pox Vaccine(非乾燥 Vaccine) 0.1-0.2cc를 Feather follicle method로서 野外 接種한 結果 F.Pox 流行時期에 自然感染이 없었고 其當時를 現在로하여 3個月間免疫이 維持中이란것을 보아서도 上述한 條件下의 Seed Virus로 生産한 Vaccine은 免疫期間이 짧은것은 事實인 模樣이다. 그러나 著者들이 實驗한 結果는 免疫期間이 10個月間이었다는 것을 比較하여보면 큰距離가있는 것이다. 免疫期間을 左右하는 條件은 毒性的 強弱如何에도 있을것인 즉 考察에 앞서 미리 言及하고자 한다.

우리가 Vaccine生産에 利用해온 Nakano strain은 本實驗을할 1959年5月現在로 52代까지 C.A.M.上에 繼代하여 왔다. 前記한 P→E.102→P.8→F.7-10→E2-3인 最後에것 卽 E2-3에서 얼마를 繼代한 것이며 또앞으로 얼마를 繼代하여야되는 것인지 또는 無限대로 繼代하여도 可한지를 參考文에도 明示함이 없이 다만 이런것을 Seed Virus로서 使用한다고 하였을 뿐이다. 그런故로 우리가 C.A.M.上에 52代繼代한것은 實質的으로는 60-70代가 될것이라는 假說 아래 壽性에 어떠한 變化가 생起어 가지고 10個月이란 免疫이 成立되지 않았는가를 疑心하는 라임으로 Pox에 對한 一元說을 다시한번 回顧하여 보기로한다. 人痘對牛痘 같은것은 除外하고서 大部分의 Pox는 動物에 連續繼代를 함으로서 歸化또는 再歸化되고 免疫學的으로도 並行하여 成立된다는 實驗的 根據下에서 Pox의 一元說을 主張하게 된것은 周知의 事實이다. 1927年 Kii와 Kasai<sup>(18)</sup>(<sup>19</sup>)는 Sheep Pox Virus를 家兎에 數代繼代(Testicle內)함으로서 全然 Vaccinia Virus로되고 Sheep Pox Virus가 轉化된 Vaccine Virus와 Small Pox에서 轉化된 Vaccine Virus와는 어떠한 點에 있어서도 조금도 區別할수 없다고 하였으며 또 氏는 Ovini-zed Vaccine試驗에서 Vaccine Virus를 Sheep에 連續繼代하면 Sheep에 完全馴化되고 同時에 이에 對한 免疫성이 나타나고 Vaccine Virus로서의 性質은 全然없어 진다고한 反面에 Sheep Pox에 對한 高度의 免疫性도 주지만 Vaccine으로 應用하고자하면 그防禦力이 不充分하다고 하였다. 同年 Kasai<sup>(20)</sup>는 F.Pox Virus를 Rabbit에 連續繼代함으로서 Vaccinia Virus를 變化하고 鳥類에 對한 毒性및 禽痘毒에 對한 免疫元性を 喪失하고 Vaccinia Virus와는 其毒性 및 免疫性を 同一하게 한다고 하였으며 禽痘毒역시 人痘毒과 其根原을 같이하는것으로 본다고 主張하였다. 또 이사람은 同年에 Caprina 研究<sup>(21)</sup>에서 Small Pox Virus를 他動物에 移植할때에는 Vaccinia Virus로 變化하며 人에 對한 그原來의 免疫性에는 거의 變化가 없는데도 不拘하고 Sheep Pox Virus에서는 同一한 過程으로 毒性變化하였을때 其本來의 免疫性은 一變함으로서 Vaccinia Virus로서는 直接 Sheep Pox를 防禦치 못한다는 것이다. Sheep Pox Virus를 가지고 人痘對牛痘와 같은것을 만들려면 于先 牛痘化를 避해야되고 이런것을 만들기 爲하여 動物로서 Goat가 第一종다고 하였다. 1934年 Matsumura<sup>(22)</sup>(<sup>23</sup>)(<sup>24</sup>)는 牛化人痘毒을 鷄體에 3-4代 Passage하면 鷄痘毒化되어 鷄痘毒과 免疫學的으로 一致하게 되고 牛痘毒

과는 別種이 된다고 하였고 또 鷄痘毒을 Rabbit에 接種함으로써 家兎化, 卽牛化에 成功하였고 免疫學的으로도 一致한다고 論하였다. 同年 Matsumura는 鷄化牛痘毒의 牛痘毒으로서의 再歸化 및 牛化鷄痘毒의 鷄痘毒으로서의 再歸化實驗에서 이들은 再歸化가 可能하고 起病性 및 免疫原性도 並行하여 一致하게 出現한다고 報告하였다. 1938年 Akazawa 및 Hotta<sup>(25)</sup>도 人痘毒을 가지고 牛痘化에 또는 豚痘毒<sup>(26)</sup>을 가지고 牛痘化에 成功하였고 1639年 同氏<sup>(27)</sup>는 역시 羊痘毒을 가지고 牛痘化에 成功하였다. 1930年 Yoshikawa<sup>(28)</sup>는 牛化人痘毒과 豚痘毒을 豚痘에 對한 免疫性이 共通인것을 首肯하고 兩者는 一元이라고 報告하였다.

以上과같이 우리가 入手한 限度內的 文獻으로 보아도 大概의 Pox類는 原來的 宿主를 떠난 他動物에 連續繼代하면 馴化되고 起病性 및 免疫原性이 一致한다는것으로 보아 P.Pox Virus와 F.Pox Virus間에도 이러한 關係의 成立 卽 P.Pox Virus를 C.A.M.上에 長期繼代함으로써 鷄痘化되고 毒性的 變化가 尠것이라고 生覺된다. 우리가 Nakano strain을 分讓받아 52代까지 C.A.M.上에 繼代하여 本實驗을 하였든바 닭에는 아무런 影響이 없고 一應性의 發病으로서 經過하였고 實驗室 및 野外實驗에서 滿足할만한 成績을 얻었다. 特히 免疫期間은 理想的이라고 할程度로 充分하였다. 本實驗의 結果 數千萬百分의 Vaccine이 生産되어 民衆에 放出되었고 生産時의 Vaccine의 Strain은 繼代數 56代이었다. 그後 57代로 Vaccine을 生産하여 民衆과 著者等의 飼育鷄에 應用하였던바 民衆에 接種된 衰弱鷄는 自然退却가 나타나고 著者等의 產卵鷄는 產卵中止의 狀態에 入り가 2週만에 恢復하였지만 弱性 및 死因은 一死鷄는 全然없었다. 그러하므로 本 Virus의 強毒 F.Pox化를 豫防하여 다시 Pigeon의 飼代繼代하고 C.A.M.上에 繼代함으로써 Strain의 調整을 하고있는 中이며 本實驗의 成績이 주위 C.A.M. 50代까지 Passage할것을 目的하고 있다. 反面現在의 Strain을 그대로 長期 C.A.M.上에 Passage하므로써 F.Pox化有無를 檢討中에 있다.

## II 材料 및 試驗方法

Strain은 上述한바와같이 Nakano Strain 第52代를 使用하였고 初卵은 10~20日卵 通常12日卵을 使用하였다. Burnet氏의 Window method로서 實驗材料을 0.1cc씩 滴下하여 5~6日培養後 開卵하되 完全發痘 2個以上(現存하는 卵半)의것을 成績에 計入시켜 判斷하였다.

供試鷄는 3個月令程度의 Pox에 罹患한바없는 新年雛를 使用하였고 接種方法은 Feather follicle method로서 1首當 Vaccine의 必要量이 平均 0.25~0.3cc이었다. 接種後에는 發痘가 完結될때까지 觀察하였고 Control은 40日 또는 그以上 觀察하였다. Vaccine은 特記하지 않은限 通常蒸溜水로 稀釋하여 接種하였다.

Challenge Virus는 實驗室에서 解放된 닭中에서 自然發生한것을 採取한 것이다. 1957年 9月에 分離한以來 Chicken에 4代 Passage하고 其後 C.A.M.上에 連續繼代하여온 것으로서 本實驗當時 8代이었고 그 Titer는 現在도 相當  $EID_{50} = 10^{7.5} \sim 10^8$ 이다. Challenge는 恒當 100倍로하여 發痘消失直後에 Vaccination을 反對期間에 行入하였다.

## III 試驗成績

### 1). Vaccine Strain의 發育期內分布

上述한 試驗方法에 依하여 接種卵의 Allantoic-Amniotic Fluid, Chorio-allantoic Fluid, C.

A.M. Albumen, Yolk, Embryo 등을 嚴密히 分離하되 發育卵 C.A.M.에 그力價를 測定한 結果는 表1과 같다.

Table 1. Distribution of Fowl Pox Virus (Nakano Strain) in Developing-Chicken Eggs

Materials	No. of exp.	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	EID 50	Mean EID 50
Allantoic Amoniotic Fluid	1	6/6	3/6	0/6	0/6	—	—	—	10-2.0	10-2.3
	2	4/5	4/5	3/5	0/5	—	—	—	10-2.7	
Chorio-Allantoic Fluid	1	6/6	3/6	0/6	0/6	—	—	—	10-2.0	10-2.2
	2	4/5	3/5	3/5	0/5	—	—	—	10-2.5	
Chorio-Allantoic Membrane	1	—	—	6/6	6/6	4/6	2/6	0/6	10-5.5	10-5.4
	2	—	—	—	5/5	3/5	2/5	0/5	10-5.4	
Albumen	1	0/6	0/6	0/6	—	—	—	—	10-0.0	10-0.7
	2	3/5	2/5	0/5	0/5	—	—	—	10-1.4	
Yolk	1	6/6	6/6	2/6	0/6	—	—	—	10-2.7	10-2.9
	2	—	4/5	3/5	1/5	0/5	—	—	10-3.1	
Embryo	1	6/6	5/6	1/5	0/5	—	—	—	10-2.4	10-2.4
	2	—	3/5	1/6	1/6	0/5	—	—	10-2.4	

表1의 依하면 C.A.M.의 平均 EID<sub>50</sub> 10<sup>-5.4</sup>로서 가장 Titer가 높으며 C.A. Fluid 및 A.A. Fluid, Yolk, Embryo 등은 平均 EID<sub>50</sub> 10<sup>-2.2</sup>~10<sup>-2.9</sup>이고 Albumen은 10<sup>-0.7</sup>로서 第一적였다.

2) 各種 Vaccine의 C.A.M.에 對한 Titer와 接種方法에 따르는 닭에 있어서의 Titer 例의 實驗方法에 依하여 4種의 Vaccine을 다음과 如히 製造하였다. 卽 何等의 稀釋液을 加하지 않은 Whole embryo Vaccine과 Sabben氏<sup>(3)</sup>의 方法에 依하여 全卵容量의 1/4에 該當하는 Saline Solution(0.85%)을 加한 Whole embryo Vaccine 및 Embryo除去 Vaccine, C.A.M 調味 Vaccine 등이며 Titer의 優劣을 Chiken 및 C.A.M.에 對하여 測定하되 Brush method 와 Stick method를 應用 其發痘成績을 比較하였다.

以上の 4種 Vaccine은 表1과 같은 Virus分布狀態로 보아 가장 높은 C.A.M.의 Titer 10<sup>-5.4</sup>의 全體의 平均 Titer 10<sup>-2.7</sup>을 比較하여 보면 Whole embryo vaccine 그自體는 1/2로 稀釋된 Titer를 갖게 되는 셈이고 量的으로는 C.A.M.에 比하여 훨씬 많다. 그러나 Whole embryo vaccine에 難點이었다.

採毒時期의 卵令은 17~18日 程度가 되는 故로 羽毛의 發生이 甚하여 製造作業에 支障이 있다. Whole embryo Vaccine에 Saline Solution을 加한 것은 다만 Sabben<sup>(3)</sup>에 依據한 것이다. Embryo除去 Vaccine은 作業에 支障이 있다는 點을 除去하기 爲한 手段이고 C.A.M. Vaccine은 Titer가 가장 높으므로 安全한 Titer를 維持할 수 있다는 點이다. Titer가 낮은 것을 적게 稀釋하여 쓴다는 것과 높은 것을 많이 稀釋하여 쓴다는 것은 終局에 가서는 同一한 것이며 作業上 매우 便利하기 때문에 試驗製造된 것이다.

Challenge는 充分한 時日을 두어서 接種後 27日만에 하였고 그結果는 成績表2와 같다.

Table. 2 EID<sub>50</sub> and FID<sub>50</sub> of Vaccine Prepared by Different Methods of Vaccination

Lot No.	Method of Inoculation	Animals or Eggs	Dilution	Whole embr-	Deembryona-	Whole embr-	C.A.M. only
				yo Vaccine	ted Vaccine	yo Vaccine with saline	
				Reaction ID50	Reaction ID50	Reaction ID50	Reaction ID50
3	Brushing	Chicken	10-2	0/5	0/5	0/5	
			10-3	3/5	2/5	3/5	
			10-4	4/5 10-3.8	4/5 10-3.3	3/5 10-3.4	
			10-5	4/5	5/5	4/5	
			10-6	5/5	5/5	5/5	
	Sticking	Chicken	10-2	1/5	1/5	1/5	
			10-3	5/5	4/5	3/5	
			10-4	5/5 10-2.3	5/5 10-2.4	5/5 10-2.6	
			10-5	5/5	5/5	5/5	
			10-6	5/5	5/5	5/5	
	Dropping on C.A.M.	Egg	10-3	5/5	4/5	5/5	
			10-4	3/5	4/5	4/5	
			10-5	3/5 10-4.7	1/5 10-4.3	0/5 10-4.3	
			10-6	0/5	0/5	0/5	
4	Brushing	Chicken	10-1	0/10			
			10-2	0/10			
			10-3	0/10 10-3.7			
			10-4	3/10			
			10-5	10/10			
	Dropping on C.A.M.	Egg	10-3	5/5			
			10-4	4/5			
			10-5	2/5 10-4.6			
			10-6	0/5			
9	Brushing	Chicken	10-1			0/10	
			10-2			0/10	
			10-3			0/10	
			10-4			0/10 10-5.2	
			10-5			3/10	
			10-6			10/10	
	Droppine on C.A.M.	Egg	10-3			10/10	
			10-4			10/10	
			10-5			8/10 10-6.3	
			10-6			7/10	
			10-7			3/10	
2	Dropping on C.A.M.	Egg	10-2			10/10	
			10-3			10/10	
			10-4			10/10 10-5.6	
			10-5			9/10	
			10-6			3/10	
			10-7			0/10	
5	Dropping on C.A.M.	Egg	10-3			5/5	
			10-4			5/5	
			10-5			5/5 10-5.6	
			10-6			1/5	
			10-7			0/5	
10	Brushing	Chicken	10-2			0/5	
			10-3			0/5	
			10-4			0/5 10-4.6	
			10-5			4/5	
			10-6			5/5	

表2의 成績에 依하면 動物別에 따르는 Titer의 差異는 Chicken보다 C.A.M.에 對한 Titer가 恒常 높고 Chicken에 對한 Titer는 通常 1段이 낮아진다. Whole embryo, Embryo除去, Saline加 Vaccine 등은 大同小異한 Titer를 갖고 있는 故로 이것을 橫的으로 其平均(Lot. No. 3)을 따져보면 Brushing으로서는 FID<sub>50</sub> 10<sup>-3.5</sup>, Sticking으로서는 FID<sub>50</sub> 10<sup>-2.4</sup>이고, C.A.M.에 對한것은 EID<sub>50</sub>가 平均 10<sup>-4.4</sup>이다. 卽 Brushing과 C.A.M.에서의 Titer를 比較하면 C.A.M.에 對한 Titer가 0.9가 높고 또 Sticking과의 比較에서는 10<sup>-2.9</sup>이라는 큰 差異가 있다. Lot No.4 Vaccine도 Bruhing으로 나타난 Titer와 C.A.M.에 對한 Titer를 比較하여 보면 10<sup>-0.9</sup>라는것이 C.A.M.에 있어서 높고 또 Lot No. 9에서도 10<sup>-1.1</sup>의 差가 있다. 이와같이 C.A.M.에 對한 Titer에서 10<sup>-1.0</sup>을 差引한것이 Chicken에 對한 Titer라고 推測할수가 있다. Vaccine別로본 Titer의 維持量은 C.A.M Vaccine이 가장 Titer가 높아서 通常 EID<sub>50</sub> = 10<sup>-5.5</sup>以上 (全體의 試驗을 通해서)이었고 간혹 EID<sub>50</sub> = 10<sup>-4.5</sup> ~ 10<sup>-5.0</sup>以內로 變動하는것이 2~3 Lot에 지나지 않았다. 接種方法에 依한 差異로서는 Brushing이 가장 正確하고 Sticking은 發痘成績이 不良하다. 本成績에서 Reaction이라한것은 豫防接種後 發痘가 消失되어 數日後에 Challenge하되 이것에 對하여 惡性傳移하여 40日以上 經過하여도 發痘消失되지 않은것을 말한다.

3) 接種方法에 依한 發痘成績

前記한 4種 Vaccine을 Brushing 및 Sticking 등의 方法으로 新年鷄에 對하여 試驗하였다.

Vaccine은 10倍로 稀釋하였다. 그理由는 Brushing과 Sticking을 比較할目的이며 Vaccine의 濃度を 試驗하려고 한것은 아니다. 本試驗에 使用한 Vaccine은 Lot 3. (前項參照)이고 C.A.M Vaccine은 Lot 3의 Control로서 別途로 製造한 것이며 EID<sub>50</sub> 10<sup>-5.6</sup>이었다. 成績은 表3과 같다

Table 3. Results of "Takes" after Different Methods of Vaccination

Vaccine Group Method	Whole Embryo Vaccine						Deembryonated Vaccine			Whole embryo Vaccine with Saline		C.A.M. Only			Total mean
	1	2	3	4	5	Mean	1	2	Mean	1	Mean	1	2	Mean	
Brushing	38/50 76%	41/50 82%	44/50 88%	46/50 92%	49/50 98%	87.2%	47/50 94%	40/50 80%	87%	43/50 86%	86%	49/50 98%	47/50 94%	96%	89%
Sticking	3/50 6%	0/50 0%	10/50 20%	17/50 34%	39/50 78%	27.6%	8/50 16%	35/50 70%	43%	6/50 12%	12%	29/50 58%	31/50 62%	60%	35.6%

表3에 依하면 Brushing은 Sticking보다 發痘率이 良好하여 500首中 總平均 89%이고 後者는 同數中 35.6%이다. Vaccine別로 보면 Brushing에서는 C.A.M. Vaccing을 除外하고는 그發痘率이 大略同一하여 87.2%, 87%, 86%이고 C.A.M. Vaccine優秀하여 98%, 94%이다. 이點은 Titer가 높은데 基因한것으로 본다. Sticking의 成績은 甚한動搖가 있고 衛者를 달리함으로서 더욱 그러하였다. 後章에서 論한바와 같이 單1個라도 發痘를하면 免疫成立이 可能한故로 Stick한 場所가 單純한 瘡形形成으로 끝날다하더라도 Challenge에 抵抗할지 모를 일이라는 하나 本試驗場에서는 하지 않았기때문에 言及할수가 없고 如何問에 發痘率이 不良

한것은 事實이며 其 Stick한 場所가 아무런 變化가 없는것이 大部分이었다. 그反面發痘한것은 明白히 丘狀으로 發痘한다. 實際로 Stick는 強한 Virus를 使用할때 價値가있는것 같다.

4) Vaccine後와 Challenge後의 臨床觀察一例

Whole embryo Vaccine(Lot No. 4 EID<sub>50</sub>, 10<sup>-4.6</sup>)을 例의方式에 依하여 Brush method를 利用하여 C.A.M 및 Chicken에 對한 Titer를 測定하였다. Challenge 結果의 成績은 表4와같다

Table 4. Response to Vaccination and Challenge

Dilution	Fowl No.	Total length of period observed(days)									Sequelae	
		1	4	8	14	15	19	24	29	35		
10-1	1	Vaccinated	##	##	-	Challenged	##	-	-	-		
	2		##	##	-		##	-	-	-		
	3		##	##	-		##	+	-	-		
	4		##	##	-		##	-	-	-		
	5		##	##	-		##	+	-	-		-
	6		##	##	-		##	+	-	-		-
	7		##	##	-		##	+	-	-		-
	8		##	##	-		##	+	-	-		-
	9		##	##	-		##	+	-	-		-
	10		##	##	-		##	+	-	-		-
10-2	11	Vaccinated	##	##	-	Challenged	+	-	-	-		
	12		+	+	-		##	-	-	-		
	13		+	+	-		##	+	-	-		-
	14		##	##	-		##	-	-	-		-
	15		##	##	-		##	+	-	-		-
	16		+	+	-		##	+	-	-		-
	17		+	+	-		##	+	-	-		-
	18		+	+	-		##	+	-	-		-
	19		##	##	-		##	-	-	-		-
	20		+	+	-		##	+	-	-		-
10-3	21	Vaccinated	+	+	-	Challenged	+	-	-	-		
	22		##	##	-		##	-	-	-		
	23		##	##	-		##	+	-	-		-
	24		##	##	-		##	+	-	-		-
	25		+	+	-		##	+	-	-		-
	26		+	+	-		##	+	-	-		-
	27		##	##	-		##	+	##	-		-



	28		+	+	-		卍	-	-	-			
	29		+	+	-		卍	-	-	-			
	30		+	+	-		卍	-	-	-			
10-4	31	Vaccinated	+	+	-	Challenged	+	-	-	-			
	32		-	-	-		卍	卍	卍	卍	S		
	33		-	-	-		卍	卍	卍	卍	S		
	34		-	-	-		卍	卍	卍	卍	S		
	35		+	+	-		卍	-	-	-			
	36		Death					by accident					
	37		-	-	-		卍	卍	卍	D	D		
	38		-	-	-		卍	卍	卍	D	D		
	39		+	+	-		卍	+	-	-			
	40		-	-	-		卍	卍	卍	卍	S		
10-5	41	Vaccinated	-	±	-	Challenged	卍	卍	卍	卍	S		
	42		-	-	-		卍	卍	卍	卍	S		
	43		-	±	-		卍	卍	卍	卍	S		
	44		-	-	-		卍	卍	卍	卍	S		
	45		-	-	-		卍	卍	卍	卍	D		
	46		-	-	-		卍	卍	卍	卍	S		
	47		-	±	-		卍	卍	卍	卍	D		
	48		-	-	-		卍	卍	卍	卍	D		
	49		-	±	-		卍	卍	卍	卍	D		
	50		-	-	-		卍	卍	卍	卍	S		
Control	51				Challenged	卍	卍	卍	卍	S			
	52					卍	卍	卍	卍	S			
	53					卍	卍	卍	卍	S			
	54					卍	卍	卍	卍	S			
	55					卍	卍	卍	卍	S			

Symbol: 卍, Multiple eruptions occurring on the entire treated area.  
 卍, Eruptions on the two-thirds of treated area.  
 +, Eruptions on the one-third of treated area.  
 ±, One or two swellings, probably of non-specific origin.  
 -, No eruption.  
 S, Systemic reaction including lesions extended to comb or oral cavity.  
 D, death.

表4에 依하면 7~8日째가 極期이고 10~14日이던 完全消失된다. Challenge에서 惡性化되는 것은 Comb, Oral cavity, Eye-lid에 傳移하는 것이 많고 終局에는 죽는 것도 나타난다. 惡性化된 것은 延35日間으로 끝인 것이 많고 其以上觀察하였다. 免接이 되었다고 하더라도 Challenge에

역시 發痘를 하나 一過性的 發痘로서 끝치고 免疫이되지 않은것들은 Control과 同一하게 慢性化한다. Lot 4의 力價는 C.A.M上에서 EID<sub>50</sub> 10<sup>-4.0</sup>으로 나타났으며 Chick에 對하여서는 10<sup>-3.7</sup>로서 약1段에가깝게 떠러진다는것을 알수가 있다.

5) 免疫發生時日

Vaccine後 몇일이면 免疫이成立되는 것인가를보기 爲하여 表5와같은 實驗을 하였다. 接種後 7, 10, 12, 15, 20, 25日에 該當하는 日字를가추워 Challenge를 一切히하였다.

Table 5. Onset of Immunity after Vaccination

Experiment Number	Response to challenge on indicated days after vaccination						Control
	7	10	12	15	20	25	
1	3/5	5/5		5/5	5/5	5/5	0/4
2	3/5		5/5	5/5	5/5		0/7
3	15/15						0/5
4	1/4	2/3					0/2
5	5/8	5/7					
Total	21/37	12/15	5/5	10/10	10/10	5/5	0/18

Denominator : Number of chickens that resisted the challenge and showed no systemic reactions  
 Numerator : Number of chickens challenged

表5를보면 Vaccine後 發痘極期인 7日째및 그以上の 日數에가서 Challenge한 結果인비 7日째 7日째만보아도 1回實驗에서는 3首, 2回에 3/5首, 3回에 15/15首, 4回에 1/4首, 5回에 5/8首, 全體 27/37首인 72%가 Challenge에 耐過되었고 나머지는 Control과 同一하게 慢性化或은 死亡하였다. 卽殘存發痘와는 關係없이 一定期日이 經過되면 免疫成立이 可能하다는것을 알수있다. 勿論個體에 따라 發痘가 늦게되는것도 있을지모르지만 本表의 成績으로보면 적어도 10日 以上이면 安全하다고 본다.

6) 發痘數와免疫關係

羽毛를 拔取한後 Tuberculin注射器로 Follicle에 正確히 接種하여 (約 0.05cc정이며 過剩取은 吸取紙로서 他 Follicle에 뜨러가지 못하게 하였다.) 毛筆(墨)로서 mark하여두고 觀察한 結果는 1個및 3個接種鷄全部가 良好한 發痘를 하였다.

Challenge의 結果는 表6과 같다.

Table 6. Relation of the Number of "Takes" to Immunity

No. of "takes"	Response to Challenge		
	Group 1	Group 2	Group 3
1	10/10	5/5	7/7
3	10/10	5/5	8/8
4			21/21
5			9/9
6			4/4
Control	0/5	0/4	

Note : The denominator indicates the number of chickens that resisted the challenge and the numerator the number of chickens tested.

表6의 成績에 依하면 1個發痘단 닭 全體22首가 Challenge에 完全耐過 한것으로보아 單1個 라도 發痘하던 完全免疫이 成立된다는 것을알았다.

7) 免疫持續期間

例와如히 Vaccine을 100倍로하여 Vaccination後 30日, 90日, 300日만에 Challenge하였다. Vaccine은 No. 3, 9의 C.A.M. Vaccine을 使用하였으며 그의 Titer는 各各 EID<sub>50</sub> 10<sup>-5.6</sup>, 10<sup>-6.2</sup>이었다. 同時에 發痘數에 다른 免疫期間을 觀察했고 發痘數를 規定짓는 接種方法은 前項에서 論한바와 同一하다. 成績은 表7-1, 7-2와 같다.

Table 7-1 Duration of Immunity

Group	Days after <sup>r</sup> immunization	Response to challenge		
		Number tested	Number resisted	Per cent
I	30	10	10	100
	90	10	10	100
	307	10	8	80
II	20	10	10	100
	102	7	7	100

Table 7-2 Relation of the Number of "Takes" to the Duration of Immunity

Number of "takes"	Days after immunization	Response to challenge		
		Number tested	Number resisted	Per cent
1	20	7	7	100
	102	5	5	100
2	20	5	5	100
	102	4	4	100
3	20	6	6	100
	102	6	6	100

表 7-1의 成績을보면 免疫持續期間은 90日에 10/10首(100%), 102日에 7/7首(100%) 307日에 8/10首(80%)가 Challenge에 耐過한것으로보아 約10個月 持續한다고보며 表7-2에 있어서도 1個, 2個, 3個, 共히 102日에서 5/5首, 4/4首, 6/6首가 耐過하였고 同居시킨 Control鷄들은 全部가 攻撃후 惡性化하였다. 本免疫持續試驗은 第2回實驗이 尙今도 繼續中이다.

8) 豫防藥의 保存性

C.A.M. Vaccine을 冷凍乾燥, 非乾燥로하여 各溫度에서 保存하면서 日數別로 그Titer의 消長을 Chicken 및 C.A.M.에 測定하였고 單純 乾燥Vaccine에 溶媒를加入하였을때 Virus의 生存期間은 얼마나 持續되는가를 檢討한結果는 表8-1, 8-2, 8-3, 과같다.

A) 冷凍乾燥豫防藥……(完全眞空下의 狀態로 保存한것)

Table 8-1 Effect of Storage Temperature upon the Titer of Freeze-Dried Vaccine

	Lot No. 1 ID <sub>50</sub> Titers in		Lot No. 2 ID <sub>50</sub> Titers in	
	Eggs	Chicken	Eggs	Chicken
before storage	10 <sup>-5.7</sup>	N.T.	10 <sup>-5.6</sup>	N.T.
at -20°C for 366-397 days	10 <sup>-5.1</sup>	10 <sup>-4.1</sup>	10 <sup>-5.1</sup>	10 <sup>-3.4</sup>
at 5°C for 869 days	—	—	10 <sup>-3.6</sup>	10 <sup>-2.3</sup>
at 15°C for 366 days	—	—	10 <sup>-3.1</sup>	10 <sup>-1.0</sup>

Note: N.T.……Not tested.

表8-1에 依하면 Lot 1, 2,는 保存前 即乾燥直後の Titer가 EID<sub>50</sub> 10<sup>-5.7</sup>, 10<sup>-5.6</sup>이었는데 -20°C에서 保存된 Lot No.1은 397일에 Chicken에 對한 Titer가 FID<sub>50</sub> 10<sup>-4.1</sup>, Lot No.2에 366일에 10<sup>-3.4</sup>로서 0.7의 差異가있다. 反面에 C.A.M에 對하여서는 共히 EID<sub>50</sub> 10<sup>-5.1</sup>인故로 Chicken에 對한 Titer의 差異는 個體的差異라 하겠다. 地下室(年中平均 15°C), 및 5°C에서 保存된 Lot No.2 Vaccine의 Chicken에 對한 Titer는 366일에 FID<sub>50</sub> 10<sup>-1.0</sup>이고 869일에 10<sup>-2.3</sup>이다. C.A.M.에 對해서는 共히 EID<sub>50</sub> 10<sup>-3.1</sup> 및 10<sup>-3.6</sup>이다. 結果의오로보아 -20°C에 保存한것이 가장優秀하고 다음은 5°C, 다음은 地下室의 順位로서 野外事情을 考慮한다면 5°C以下에서 1年 或은 共以上 Vaccine의 Titer를 維持할수있는 問題라고 生覺한다.

(B) 非乾燥疫苗

Vaccine은 Lot No.3의 C.A.M. Vaccine이며 非乾燥狀態로 30日間保存(各溫度에서)하되 沸溜水로 稀釋하여 使用하였다. Chicken에 對한것은 Challenge하여 悪性化有無를 檢査하였다. 그成績은 表8-2와 같다.

Table 8-2 Effect of Storage Temperature upon the Titer of Non-Dried Vaccine

		ID <sub>50</sub> Titers in	
		Egg	Chicken
Before storage		10 <sup>-3.6</sup>	—
Stored for 30 days at	-20°C	10 <sup>-4.6</sup>	10 <sup>-3.0</sup>
	5°C	10 <sup>-4.1</sup>	10 <sup>-2.1</sup>
	28°C-37°C	10 <sup>-3.2</sup>	10 <sup>-1.1</sup>

Symbol: —. Not tested.

表8-2에 依하면 5°C에서 C.A.M.에 對한 Titer는 3回 實驗平均이 10<sup>-4.1</sup>이고 10°C에서는 역시 3回平均이 10<sup>-4.6</sup>, 室溫平均(3回) 26°C에것은 10<sup>-3.2</sup>이므로 Vaccine自體로서는 價値가있

으나 Chicken에 對하여서는 5°C以下에 保存된것은 稀釋濃度如何에 따라 Vaccine으로 使用할수있으며 平均室溫 26°C에서 保存된것은 無價値하다 Lot No.3의 Vaccine은 始初의 Titer  $10^{5.6}$ 이었는데 30日間에 急激히 titer가 떨어진다는것은 30日間以上の 保存은 危險性을 內包하고 있다고 할것이지만 그러나 Vaccine 自身은 5°C以下에서 保存時에는 C.A.M.에 對해서는 充分한 Titer를 가지고있기 때문에 30日間以上の 保存은 問題가없고 後章(C)에서의 成績을 合하여 考察하면 于先50日까지 保存이可能하다는것을 알수가 있다.

(C) 乾燥豫防藥에 溶媒加入後의 Virus生存期間

Lot No 6, C.A.M. Vaccine을 乾燥한다음 直時로 0.85% Saline Solution, Distilled Water, 50% Glycerol Saline Solution 등의 溶媒로서 10倍稀釋하여 5°C, 20°C에 保存되 目的日數인 10, 20, 50日이 到來하면 C.A.M.에對한 Titer의 消長을 調査하였다. Lot No.6의 Titer는 乾燥直前의 Titer가  $EID_{50} 10^{5.6}$ 이었고 乾燥直後의 Titer가  $EID_{50} 10^{5.6}$ 이었다. 溶媒加入直後의 Titer역시  $10^{5.6}$ 이었다. 成績은 表8—3과같다.

Table 8—3 Effects of Diluent, storage Period and Temperature upon the Titer of Reconstituted Vaccine

Titer before desiccation..... $10^{5.6}$						
Titer after desiccation..... $10^{5.6}$						
Titer after reconstitution ..... $10^{5.6}$						
—Log $EID_{50}$ of Vaccine reconstituted with indicated diluent and stored at indicated temperature						
Days stored	5°C			20°C		
	0.8% saline	distilled water	50% glycerol saline	0.8% saline	distilled water	50% glycerol saline
10	5.6	5.6	3.6	4.1	4.0	2.6
20	5.6	5.3	3.4	4.1	4.3	2.2
50	4.1	4.5	2.5	3.5	3.0	1.5

表8—3에 依하면 乾燥直後에 直時로 溶媒하였기 때문에 非乾燥豫防藥과 同--하다고 볼수 있다. 前章(B)에서는 5°C에서 30日間程度이었는데 本試驗에서는 5°C, 20°C, 各各 50日間에서  $10^{2.0}$ 以下로 는떨어지지 않는것으로보아 于先 本成績에 立脚하여 50日까지는 保存이可能하다는것을 알수있다. (Saline Solution, Distilled Water溶媒)

溶媒는 50% Glycerol Saline Solution이 가장惡影響을 주는것같다. 이것은 溶媒加入直前의 Titer가  $EID_{50} 10^{5.6}$ 이던것이 5°C에서 10日만에  $10^{3.6}$ , 20日에  $10^{3.4}$ , 50日에  $10^{2.5}$ 로 떨어지고 20°C에서는 10日째부터  $10^{2.6}$ 以下로 떨어진다는 事實은 本液이 不適當하다는것을 意味하는 것으로본다. 以上の 結果로보아 實際野外使用時에 있어서 Distilled water를 使用할것과 10倍로 稀釋된 Vaccine은 5°C에서 50日間, 20°C에서 20日 間保存後에도 使用할수 있다는 問題다. Glycerol은 Virus의 附着을간하고 他細菌의 侵入防止, 및 皮膚保護上 좋은것이지

만 우리들의 現實情으로서는 實用化하기가 困難할 것이다.

### 9) Vaccine의 乾燥直前과 直後의 Titer

冷凍乾燥過程에서 生産된 Vaccine의 乾燥前과 直後의 Titer를 C.A.M.에 測定比較하였다. 乾燥材料에는 Skim milk가 同量 및 其他 Antibiotics가 添入되었다. 例數가 적지만 成績은 表9와 같다.

Table 9. EID<sub>50</sub> of Vaccine before and after Desiccation

Lot No.	Vaccine	Titer before desiccation						Titer after desiccation						Difference before and after desiccation	
		10-3	10-4	10-5	10-6	10-7	EID <sub>50</sub> Mean	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7	EID <sub>50</sub> Mean		
6	CAM	7/7	7/7	7/7	3/7	0/7	10 <sup>-5.8</sup>	7/7	7/7	7/5	7/3	7/0	7/10	10 <sup>-5.6</sup>	
8	CAM	5/5	5/5	4/5	2/5	0/5	10 <sup>-5.6</sup>	5/5	5/5	5/3	5/2	5/0	5/10	10 <sup>-5.4</sup>	
9	CAM	10/10	10/10	8/10	3/10	5/10	10 <sup>-6.3</sup>	6/6	6/6	6/3	6/3	6/1	6/10	10 <sup>-5.6</sup>	
10	CAM	5/5	4/5	4/5	0/5		10 <sup>-5.2</sup>	5/5	4/5	4/5	0/5		10 <sup>-4.4</sup>	10 <sup>-0.8</sup>	

表9에 依하면 全體的으로보아 乾燥直前의 Titer는 平均 EID<sub>50</sub> 10<sup>-5.7</sup>이었는데 乾燥直後의 Titer는 平均 10<sup>-5.2</sup>이로서 그 平均差는 0.5 卽 0.5를 中心으로 約1階段이란 것이 乾燥로因하여 損失된다고 보면 틀림없을 것이다.

### 10) 野外實驗

C.A.M. Vaccine을 接種하되(×100) 45日後에 15首를 拔取하여 Challenge한 結果 成績이 良好하였고 Vaccination한 닭 3,700首의 發症率은 100%이었다. Control로서 1,160首를 鶏痘流行時期에 調査하였다.

Table 10. Field Vaccination Experiment

Flock Number	Number chickens vaccinated	Vaccination age	Number birds producing "takes"
1	100	6 months	100
2	50	6	50
3	100	6	100
4	2500	5 days	2325 (93%)
5	274	67	274
6	260	75	260
7	96	120	96
8	160	80	160
9	160	90	160

表10의 成績과 같이 發症率은 매우 良好하였고 Control로서 全然 Vaccination을 하지 않은 附近養鵝場을 鶏痘流行時期에 檢査한 結果 1,160首中 89首(7.6%)가 現患中이고 始初에는 40~50%가 感染하여 큰 損害를 보았다는 畜主들의 參考的 材料이었다. 消耗된 Vaccine의 量은 全群 平均하여 1首當 0.29cc가 所費되었다. Vaccination한 群에서는 感染된 것은 하나도 없었다.

### IV. 考 察

九人들의 말대로 發病消失直後에 있어서 免毒이 形成된다고 하는 것은 틀림없는 事實이나 우

리들의 實驗에 依하면 發病極期인 7,8日째에도 免疫이 成立되고 10日이던 것이 完成된다. 發病數는 單1個라도 發病하면 免疫이 成立된다는 事實에 비추어 많은 닭을 뽑을 必要가 없고 다만 그 持續期間이 問題이지만 107日째에서도 免疫을 持續하고 있었다. 免疫體出現時期를 究明코져 試驗內中和試驗을 하였든바 하나도 成立되는 것이 없었다. 이는 牛病毒免清<sup>(29)</sup>에서와 如히 손쉽게 나타나지 않고 Kawasima<sup>(30)</sup>에 依하면 禽痘毒의 免疫血清은 高度免疫의 過程을 밟지 아니하면 얻을수없다고 하였다.

Challenge는 發痘가 確實하면 必要性은 없다고 보며 다만 不明確한것은 할 必要가 있다. Vaccination한 자리에 Challenge를 하면 또 發病는 出現한다. 이런 點으로 보아 野外接種雞에서 鷄病가 流行할 時期에는 鷄冠에 傷處를 받아서 野外毒이 侵入하여 發病할 憂慮가 있지만 이는 短時日에 消失될 것이다. 特히 實驗할 때 注意할 事項의 하나라고 生覺한다.

우리나라는 Newcastle病의 常在地인 만큼 F.Pox Vaccine을 Brush method로 接種할 때 N.D.에 感染될 念慮가 있는故로 N.D. Vaccine을 맞지 않은것은 本Vaccine의 接種을 避하는것도 無意味한것은 아니라고 生覺한다.

長期保存後의 Titer를 考慮하고 經濟的의面을 보아 Vaccine의 濃度를 50倍로 하는 것이 좋을 듯하다. 다만 1年以上 保存後에는 其以上으로 稀釋하여 接種한다는 것은 極力避하여야 할 것이다.

## V. 結 論

(1) Nakano Strain 52代의 發育鷄卵內 Virus分布狀態는 C.A.M.이 平均  $10^{3.4}$ 로서 第一양았고 卵白이 第一적은  $10^{0.7}$ 이었으며 나머지는 平均  $10^{2.4}$ 이었다.

(2) Vaccine의 C.A.M.와 Chicken에 對한 Titer는 어느種類의 Vaccine이든지 C.A.M.에서는 1段階 높았으며 Vaccine別로 보면 C.A.M. Vaccine이 第一 Titer가 높아서 EID<sub>50</sub> 平均 5.7이었다. 其他 Vaccine은 平均 EID<sub>50</sub>  $10^{4.4}$ 이었다.

(3) 接種方法에 依한 發病成績은 Brush method가 우수하여 500首에 실시한結果 全體 平均 89%의 發痘率이 있는 반면에 同數인 500首에 Stick method로 한것은 35.6%의 低率이었다.

(4) 免疫發生時日은 接種後 發痘極期인 7~8日째에서도 나타나며 10日이던 것이 完成되고 發病數가 單一個라도 免疫이 成立된다.

(5) 免疫持續期間은 90日에 10/10首, 102日에 7/7首, 307 日에 8/10首가 免疫이 持續되었고 1個, 2, 3個 發痘시킨것들은 102日째에서 各 5/5首, 4/4首, 9/6首가 免疫이 持續되었다.

(6) Vaccine의 保存期間은 (乾燥眞空된것) 5°C 또는 其以下에서 869日째에 EID<sub>50</sub>  $10^{3.6}$ 이었고(C.A.M. Vaccine) 非乾燥 Vaccine은 5°C에서 50日內에 EID<sub>50</sub>  $10^{3.0}$ 이었다. (C.A.M. Vaccine)

(7) 溶媒液인 0.85% Saline Solution 및 Distilled Water 등은 50日內에 共히 EID<sub>50</sub>  $10^{3.0}$ 以上 維持하고 있었으나 (5°C, 20°C에서) 50% Glycerol液을 加한것은 5°C에서 50日內에 EID<sub>50</sub>  $10^{2.5}$ , 20°C에서 EID<sub>50</sub>  $10^{1.5}$ 으로 떨어졌다.

(8) 乾前과 直後의 Titer의 差異는 약 1단계 以內의 것이 乾燥로 因하여 消失된다. 그러하므로 C.A.M. Vaccine을 乾燥할것을 提唱한다.

## References

1. WOODRUFF, A. M., & GOODPASTURE, E. W.: The susceptibility of the chorioallantoic membrane of chicken embryo to infection with the fowl pox virus. *Am. Jour. Path.* 7: 209, 1931.
2. BRANDLY, C.A.: Studies on the egg-propagated viruses of Infectious Laryngotracheitis and Fowl pox. *J. A. V. M. A.*, 88: 567, 1936.
3. BRANDLY, C. A. and DUNLAP, G. L: Immunization against Fowl pox with Fowl and pigeon pox viruses cultivated in vivo and in vitro. *J. A. V. M. A.*, 95: 349, 1939.
4. THORNING, W.M., GRAHAM, R., & LEVINE, N.D.: Studies on certain filtrable viruses. V. Immunogenic properties of the entire chicken embryo inoculated with fowl pox virus. *Am. J. Vet. Res.* 4: 250, 1943.
5. SABBEN, M.S.: Fowl pox and the use of the whole embryo vaccine in controlling the disease in Egypt. *Am. J. Vet. Res.* 15: 133, 1954.
6. Printed by Pitman-More Co.: Fowl pox and its control with fowl pox vaccine.
7. Printed by Fort Dodge Laboratories.: Fort Dodge fowl pox vaccine and pigeon pox vaccine (Chicken embryo origin vacuum-dried)
8. BEACH, J. R.: The diagnosis, therapeutics and prophylaxis of chicken-pox (Contagious epithelioma of fowls.) *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 58: 301, 1921.
9. BOERNER, F. Jr. & E.L. STUBBS.: Experiments to determine the value of chicken pox vaccine. *Ibid.*, 60: 83, 1922.
10. DOYIE, T. M. & F.C. MINETT: Fowl pox. *J. Comp. Path. & Ther.*, 40: 248, 1927.
11. DOYIE, T.M.: Immunization of fowls against fowl-pox by means of pigeon-pox virus. *J. Comp. Path. & Ther.*, 43: 49, 1930.
12. JOHNSON, E. P.: Results of experiments with the use of pigeon-pox as cutaneous vaccine against fowl-pox. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 79: 81, 1931.
13. MICHAEL, S. T.: Results with pigeon-pox virus for the immunization of Fowls against chicken pox. *Ibid.*, 81: 319, 1932.
14. AKAZWA, S.: Studies on the prophylaxis of Fowl-pox., *J. Jap. Jour. Vet. Sci.* 5: 139, 1943.
15. 最近の 獣疫學
16. 日本生物科學研究所 消息 昭30. 10 1卷2號 P.44
17. TAKAMATSU, Y., F SUGIMOTO., S. AKIYAMA.: Field Application of NIBS Fowl Pox Vaccine to Chickens. *J. Jap. Vet. Med Ass.* 7: 262, 1954.
18. N.KII and H. KASAI. Transformation of the sheep-pox virus into the vaccinia virus by means of testicular passage of rabbits. *J. Jap. Soci. Vet. Sci.* 6: 137, 1927.
19. N. KII., H. KASAI., On the ovinated vaccine. *J. Jap. Soci. Vet. Sci.* 6: 137, 1927.
20. KASANO, H., Über die Japanisierte Cefluegelpocken. *J. Jap. Soci. Vet. Sci.* 6: 323, 1927.
21. KASAI, H. An additional study of caprina, the prophylactic vaccine for Sheep-pox.



- J. Jap. Soci. Vet. Sci. 6: 241, 1927.
22. MATSUMURA. T.: On the identity between the virus of contagious epithelioma of fowl and vaccine virus. I. The gallinization of the vaccine virus through fowl passage. J. Jap. Soc. Vet. Sci. 13: 39, 1934.
23. MATSUMURA. T.: II. The vaccination of the epithelioma virus through rabbit passage. J. Jap. Soci. Vet. Sci. 8: 92, 1934.
24. MATSUMURA. T.: III. Reversion of the modified virus to the original ones. J. Jap. Soci. Vet. Sci. 13: 105, 1934.
25. AKAZAWA. S., & T. HOTTA.: Experiments on animals with the small-pox virus with special reference to vaccination. J. Jap. Soci. Vet. Sci. 17: 241, 1938.
26. AKAZAWA. S.: Experiments on Animals with the scab-virus of Swine-pox with special reference to vaccination Rep. Cover. Inst. Vet. Res., Fusan, Chosen, Japan. 11: 19, 1938.
27. AKAZAWA. S., S. KATO.: Animal Experiments with the scab-virus of sheep-pox with special reference to its vaccination. Rep. Cover. Inst. Vet. Res. Fusan, Chosen, Japan. 11: 44, 1938.
28. YOSHIKAWA. M.: Die Untersuchung über Schweinepocken in Mandschrei (Die Zweite Mitteilung) J. Jap. Soci. Vet. Sci. 9: 161, 1930.
29. S. NAGAHATA and S. IKECAYA.: Anti-vaccinal serum and its anti-viral body. J. Jap. Soci. Vet. Sci. 17: 1, 1938.
30. 川島, 今井, 禽痘毒の中和試験, 家畜衛生協會報 十年三號 昭17. P.271.

### Experimental Studies of Fowl Pox Vaccine

This experiment was conducted on the fowl pox embryo vaccine for the production immunity, and stability, using an attenuated fowl pox virus (Nakano strain). Burnet's window method was applied, that is, 0.1 ml. of seed virus was inoculated on the chorio-allantoic membrane of 12-day old chicken embryos, and incubated for 5 to 6 days, and then the results were read. Four kinds of suspensions of different embryo tissue were prepared and tested for the infectivity in chickens. Finally the suspension of chorioallantoic membrane was used as the vaccine throughout the experiment.

Results obtained in this experiment are summarized as follows:

- (1) Of embryo tissues infected with the vaccine virus, chorioallantoic membrane had the highest virus titer of  $10^{5.4}$  EID<sub>50</sub>, and albumen the lowest titer of  $10^{0.7}$  EID<sub>50</sub>.
- (2) Suspensions of infected whole embryo with or without saline, and de-embryonated whole egg had about the same virus titer of  $10^{4.4}$  EID<sub>50</sub>, whereas the chorioallantoic membrane had  $10^{5.7}$  EID 50 or higher. The virus titer dropped one log from EID<sub>50</sub> when inoculated into chickens. Takes were observed 35.6% of 500 chickens by stick method and 89% of 500 chickens by brush method.
- (3) The chorioallantoic membrane conferred almost perfect immunity for chickens by 10 days after vaccination.
- (4) Satisfactory immunity was observed in the chickens when eruption in a single follicle.

- (5) Eight of 10 vaccinated chickens revealed durable immunity for 307 days following vaccination.
- (6) The vacuum-dried vaccine maintained its infectivity for 899 days at 5°C or below and maintained the virus titer of  $10^{-3.6}$  EID<sub>50</sub>. On the other hand, non-desiccated wet vaccine maintained the titer of  $10^{-3.0}$  EID<sub>50</sub> for 50 days of preservation period at 5°. However, in 50% glycerin-saline the infectivity of the same wet vaccine dropped to  $10^{-1.5}$  EID<sub>50</sub>.
- (7) The variation of virus titer of the vaccine before and after desiccation was  $10^{-0.5}$  EID<sub>50</sub> on the average.
- (8) As suspending media, 0.85 per cent saline and distilled water showed nearly the same effect on the infectivity of the vaccine by retaining the titer of  $10^{-3.0}$  EID<sub>50</sub> after 50 days of preservation both at 5°C and 20°C, while 50 per cent glycerine-saline dropped the titer to  $10^{-1.5}$  EID and  $10^{-1.5}$  EID<sub>50</sub> respectively at 5°C and 20°C after the same period.

(抄錄)

## BRUCELLOSIS에 관한 研究

(第二報 家畜 BRUCELLOSIS에 對한 疫學的 調查報告)

(1959年 大韓獸醫學會 및 大韓微生物學會發表)

金丙九·宋丙均·李澤柱

本人等은 1957년에 外國으로부터 韓國에 導入된 家畜과 國內一部家畜에 對한 Brucellosis를 血清學的方法(凝集反應)에 依한 調查成績結果를 發表한바 있거니와, 以後 國內家畜에서 集團的 또는 散發的인 家畜 Brucellosis의 發生을 觀察하였기에 第二報로서 1956年 부터 1959年의 이르기까지의 輸入家畜과 國內一部家畜에 對하여 美國農林省 Brucellosis의 檢査 方法에 依한 血清學的 檢査成績를 發表하는 바이다.

1. 1956年 輸入乳牛 76頭檢査中에서 陽性 9頭(11.84%)과 1956年 및 1958年 輸入山羊 1127頭 檢査中에서 陽性 11頭(0.98%)를 發見하였다.

2. 國內 一部道內乳牛中에서 1956년에는 108頭檢査中 陽性 10頭(9.25%), 1957年과 1958年 이는 計 155頭檢査中 陽性 10頭(6.45%), 1959년에는 127頭檢査中 陽性 2頭(1.57%)를 發見하였다.

3. 國內 一部道內山羊에는 1958年과 1959년에 432頭檢査中 陽性 5頭(1.15%)을 摘發하였고 豚에서는 1958년에 683頭檢査中 陽性 11頭(1.61%)과 1959년에 668頭檢査中 陽性 11頭(1.64%)를 發見하였으며 韓國役牛에 있어서는 1959 1133年頭檢査中 陽性 7頭(0.62%)의 成績을 보았다.

4. 國立濟州牧場肉牛에서 1959年7월에 580頭檢査中 陽性 111頭(19.13%)를 摘發하고 陽性및凝陽群肉牛 157頭に 對한 二次的 檢査를 1959年10월에 實施한바 陽性 71頭와 凝陽性 47頭的 集團的 發生을 確認하였다.

5. 泗川支場飼育豚群에 Brucella suis로 因한 發生을 1958年12월에 確認하고 7次에 걸친延長檢査 438頭中에서 陽性 122頭(27.87%)가 摘發되었다.

6. 1956年 輸入乳牛中 強陽性 乳牛 No. 33 및 35에 對한 延長檢査成績에서 2個月後의 血清價가 甚한低下와 4個月後의 다시 上升되는 血清價의 動搖 例를 觀察하였다. (71頁로 계속)