

소 수정란의 전염성질병 예방

석 호 봉
국립종축원

Infectious Disease Control of Bovine Embryos

Ho Bong Seok

National Animal Breeding Institute, Sunghwan

Summary

Based on the current importing and exporing regulations for disease control of embryo transfer, some important microorganisms and their control possibilities are reviewed.

The results reviewed were summarized as follows:

1. Regulations regarding to the import of embryos vary between importing and exporting countries, but exporting countries examine the donor and embryos for the health certification by the requirements of importing countries.
2. Organisms that infect the gametes are 5 kinds of viruses and the diseases caused by them could not be controlled or eradicated using embryo transfer.
3. Organisms that do not infect the gametes are 4 kinds of viruses and the causal organisms are potential candidates for control or eradication by embryo transfer.
4. Organisms that penetrate the zona pellucida and infect the embryo are 6 kinds of viruses including bovine viral diarrhoea virus.
5. Organisms that cannot penetrate the zona pellucida or do not infect the embryo are 15 kinds of viruses and the removal from their contaminations are recommended by proper washing procedure and antisera treatment. Bovine and porcine parvovirus, porcine pseudorabies virus and vesicular stomatitis virus are included in these organisms.
6. Bovine embryos that artificially exposed to various pathogenic organisms such as bovine herpes virus, IBR virus, bluetongue virus, bovine viral diarrhoea virus and *Brucella abortus* in vitro are discussed about their infection by several treatments.

서 론

수정란이식은 현재 소, 돼지, 면양, 산양 및 말과 같은 경제가축 뿐만 아니라 개, 고양이, 기타 실험 동물에까지 널리 적용되고 있다.

소에서의 수정란이식은 1) 능력의 유전적 개량, 2) 쌍태생산 및 번식간격의 단축, 3) 불임우에서 송아지생산, 4) 새로운 혈연계의 도입 5) 기타 연구 등에 목적을 두고 있다. 현재까지 수정란을 이식 할 때에 전염병을 예방하는데는 큰 관심이 없이 지나왔지만 우량형질을 가진 소수의 가축에서 다수의 가축으로 질병전파와 수정란의 국가간 수출입 교역

의 증가로 인한 외래질병의 도입우려로 지역간 및 국가간의 질병조사와 실험실검사를 기초로 한 검역 방법이 특히 중요시 되고 있다.

여기에서 논의하고자 하는 내용은 소수정란의 질병예방을 위한 수출입규정과 수정란이식에서 문제시 되는 질병의 병원체의 감염성과 예방가능성에 대하여 발표된 성적을 중심으로 검토하므로써 국내에서 수정란이식시 문제되는 위생대책에 도움이 되었으면 한다.

소수정란의 질병예방을 위한 수출입규정

소수정란수입규정은 각국에 따라 차이가 있으나

수출국은 수입국의 위생조건에 맞추어 공란우의 건강검사를 실시하고 그 증명서를 발급하고 있다.

예를들면 Eaglesome (1980) 등은 캐나다로부터 수입하는 국가는 Table 1과 같이 5개국으로서 세균성 병인이 5가지, 병독성이 4가지, 원충성이 1가지로 검사하고 있다.

국내에서는 가축전염병예방법 제23조 및 동시행 규칙 제16조의 규정에 의거 제1종 및 제2종 법정 전염병에 이환되어 있거나 이환된 경력이 없는 것

으로 규정하고 있다.

최근 미국에서 도입된 수정란이나 정액은 우결핵, 부르셀라, 소백혈병, 렘토스피라, 포모나, 트리코모나스병, 비브리오병에 대한 검사성적을 제시하고 그 외 12종의 전염병에 대하여는 공란우를 사육하고 있는 농장에서 3년간 발생보고가 없는 곳으로부터 공급하고 있다(국립종축원 도입수정란 및 정액의 건강증명서 참고).

Table 1. Veterinary Health Certification for Export of Bovine Embryos from Canada

Disease	Dam	Sire	Herd of dam	Tests and requirements	Country
Bacterial					
Brucellosis	x (6 m)	x (6 m)			Argentina
	x	x			Costa Rica
	x	x		AI and AET*	Hungary
	x (45d)	x		Dam : standard	Mexico
	x (30d)		x, NC (6 m)	agglutination test	W. Germany
Leptospirosis	x (6m)	x (6m)			Argentina
	x	x			Hungary
	x (45d)	x		AI and AET*	Mexico
	x (30d)		NC (12m)	Dam : agglutination lysis test. 9 serotypes	W. Germany
Paratuberculosis		x		AI*	Mexico
Tuberculosis	x (6m)	x (6m)			Argentina
	x	x			Costa Rica
	x	x			Hungary
	x (45d)	x		AI and AET*	Mexico
			x		W. Germany
Vibriosis	x (6m)	x (6m)			Argentina
	x	x			Costa Rica
		x		AI*	Mexico
			NS		W. Germany
Protozoal					
Trichomoniasis	x (6m)	x (6m)			Argentina
	x	x			Costa Rica
		x		AI*	Mexico
			NS		W. Germany
Contagious or infectious diseases	NS				Argentina
	NS				Costa Rica
	NS				Hungary
		NS			W. Germany

Viral				
Bluetongue	x(30d)		Dam : complement fixation test. Province of origin-herd, negative 24m prior embryo recovery and shipment	W. Germany
Foot and Mouth		NC(3m)	Area within 10Km of origin herd negative 30d prior to embryo recovery and shipment	W. Germany
IBR/IPV	x(45d)	x	AI and AET* Dam : negative test or inoculated intranasally with IBR vaccine	Mexico
	x(30d)	NC(12m)	Dam : serum neutralization test	W. Germany
Leucosis	x	x	NC(24m) Animals in herd > 24m. negative to agar gel immunodiffusion and to hematological tests within 3m prior to embryo recovery	Hungary W. Germany

x : Tested with negative result within () prior to embryo recovery and/or semen collection (Eaglesome et al., 1980)

NC : No cases or suspicion of disease within () prior to embryo recovery

NS : No signs of disease at the time of embryo recovery

* : Sire maintained on an approved artificial insemination (AI) centre which is under official veterinary control; embryos recovered from the donor cow by an approved animal embryo transfer (AET) centre registered by the Government of Canada

d : Day

m : Month

생식세포에 감염하는 미생물(바이러스)

생식세포에 감염하는 미생물은 5 가지로 알려져 있으며 전부 바이러스성 질병이다. 어떤 RNA 바이러스, 특히 내인성 oncornavirus는 생식세포를 통해 어미로부터 자손으로 전염될 수 있는데 이들 미생물과 보고내용은 Table 2에서 보는 바와 같다.

이들 바이러스 중 소에 중요한 부르팅(Bluetongue)은 생식세포로 전파된다는 사실이 부르팅에 감염된 종모우의 정액에서 발견되었다.

이와 같은 바이러스들은 감염된 수정란이 이식된 경우 다른 개체로 직접 전파되기 때문에 Eaglesome 등(1980)은 수정란이식으로는 이질병을 억제하거나 박멸하지 못한다고 하였다.

Table 2. Organisms that infect the Gametes

Pathogen	Effect	Reference
Bluetongue virus (BTV)	infection of bull spermatozoa	Foster et al., 1977
Lymphocytic choriomeningitis virus	has been demonstrated in mouse oocytes and embryo; evidence for transmission via the egg	Mims., 1966
Mouse mammary tumor virus (MTV)	evidence for oocyte, spermatozoa transmission	Bentvelzen et al., 1970

Oncornaviruses	infection demonstrated in oocytes, and , early embryos (mouse, guinea pig, primates); breeding expts. implicate infection of the spermatozoa; in embryos, the virus particles are confined to the inner cell mass, none in tropho blast cells	Andersen et al., 1972 Biczysko et al., 1973 Black, 1974 Calarco et al., 1973, 1975 Chase et al., 1972 Kalter et al., 1971 Sawicki et al., 1971
Simian virus (SV 40 DNA)	infected spermatozoa transmit the virus to the egg; infection of zona-free 2-cell and morula stage mouse embryos; after infection, morula stage developed normally but there was some degeneration of the 2-cell stage embryos; virus cannot penetrate the zona	Baranska et al., 1971 Brackett et al., 1971 Sawicki et al., 1971

(Eaglesome et al., 1980)

생식세포에 감염하지 않는 미생물(바이러스)

생식세포에 감염하지 않는 바이러스성 질병은 수정란이식에 의하여 억제되거나 사전에 박멸할 수 있다. 이러한 병원체는 Table 3과 같다.

Eaglesome 등 (1980)은 소백혈병바이러스 (BLV)는 소수정란의 투명대를 통과하지 못하지만 수정란이식을 통하여 묻혀 들어갈 수 있다. 그러나 C형 B LV는 투명대를 통과하기 때문에 수정란에 감염할 수 있다고 하였다.

Table 3. Organisms that do not Infect the Gametes

Pathogen	Effect	Reference
Bovine leukemia virus	not transmitted via the gametes	Burny et al., 1978
Murine cytomegalovirus (MCMV)	spermatozoa not infected when exposed; not transmitted to embryos when infected females bred with uninfected mates	Neighbour et al., 1978 Young et al., 1977
Sendai virus	virus adsorbed to acrosome of spermatozoa but transmission to egg is doubtful	Ericsson et al., 1971
Simian virus (SV 40)	adsorbed on rabbit spermatozoa but not transmitted	Baranska et al., 1971 Brackett et al., 1971 Sawicki et al., 1971

(Eaglesome et al., 1980)

수정란의 투명대를 통과하는 미생물(바이러스)

여러 보고자들에 의하여 발표된 수정란의 투명대를 통과 할 수 있는 바이러스는 Table 4와 같다.

소의 번식에 중요한 질병인 소바이러스성설사병 (BVD)은 이 바이러스가 수정란의 투명대를 통과 할 수 있다는 사실이 전자현미경으로 증명되었다. Eaglesome 등 (1980)은 이들 바이러스는 입자가 다른 것에 비해서 크기가 적기 때문에 투명대를 통과

할 수 있을 것이라고 보고하였다.

수정란의 투명대를 통과할 수 없는 미생물(바이러스)

수정란의 투명대를 통과할 수 없기 때문에 수정란이식으로 손쉽게 예방할 수 있는 바이러스는 Table 5와 같다.

이들 바이러스 중에서 중요시되는 바이러스는 소

Table 4. Organisms that penetrate the Zona-Pellucida and infect the Embryos

Pathogen	Effect	Reference
Bovine viral diarrhea virus (BVD)	injection into uterine horn caused degeneration of bovine embryos; BVD-like particles were found beneath the zona	Archbald et al., 1979
Feline leukemia virus (Fel LV)	replication of the virus in 3-day-old hamster embryos; virus can penetrate the zona	Chapman et al., 1974
Human adenovirus	development of 8-cell mouse embryos arrested; viral replication	Chase et al., 1972
Mengo encephalitis virus	penetrated the zona and replicated in the 2-cell and morula stages of mouse embryos	Gwatkin, 1967 Gwatkin et al., 1971 Gwatkin et al., 1966
Sendai virus	demonstrated in morulae of infected mouse colonies; conflicting evidence whether virus can penetrate the zona; replication does occur in zona-free mouse embryos	Bowen et al., 1978 Tuffrey et al., 1972
Western equine encephalomyelitis virus	degeneration of early mouse embryos	Gwatkin, 1971

(Eaglesome et al., 1980)

Table 5. Organisms that cannot penetrate the Zona Pellucida

Pathogen	Effect	Reference
Bovine parvovirus (BPV)	no replication on zona-free bovine embryos	Bowen et al., 1979
Cytomegalic inclusion disease virus	no viral replication in 2-cell mouse embryos; developed normally after exposure	Gwatkin, 1971
Herpes simplex virus	2-cell mouse embryos developed normally after exposure; no viral replication	Gwatkin, 1971
Minute virus (MVM)	infection of 2-cell mouse embryos which continued to develop normally; virus cannot penetrate the zona	Mohanty et al., 1974
Moloney sarcoma virus (MSV)	infection of unfertilized ova 2-cell and morula stage mouse embryos; development proceeded normally; virus cannot penetrate zona	Baranski et al., 1971 Sawicki et al., 1971
Moloney leukemia virus (M-MuLV)	after exposure, 4 and 8-cell mouse embryos did not produce virus and developed normally; evidence that virus is integrated into germ line; virus cannot penetrate zona	Jaenisch, 1976 Jaezisch, 1975
Murine cytomegalovirus	when embryos exposed, MCMV-like particles beneath zona, but no	Neighbour, 1979

(MCMV)	viral replication, embryos developed normally; same results with zona free mouse embryos	
Newcastle disease virus(NDV)	infection of mouse embryos when virus injected into blastocoele; only trophoblast cells infected, inner cell mass cells were virus free; virus cannot penetrate the zona	Glass et al., 1974
Porcine parvovirus	no infection of porcine embryos; virus cannot penetrate the zona	Wrathall et al., 1979
Pseudorabies virus(PrV)	no infection of porcine zona-intact embryos; preliminary evidence shows zona-free embryos are also resistant	Bolin et al., 1979
Rubella virus	no viral replication in 2-cell mouse embryos; developed normally after exposure	Gwatkin, 1966
Simian virus (SV 40)	infection of zona-free 2-cell and morula stage mouse embryos; infection had no deleterious results on development; inner cell mass cells remained free of virus; virus cannot penetrate the zona	Baranska et al., 1971 Biczysko et al., 1973 Sawicki et al., 1971
Vaccinia virus	normal development after exposure; no viral replication	Gwatkin, 1967
Vesicular stomatitis virus	viral replication in early mouse embryos; virus cannot penetrate the zona	Jaenisch et al., 1977
West Nile virus	after exposure, normal development of mouse embryos; no viral replication	Gwatkin, 1967

와 돼지의 파보바이러스, 돼지가성광견병바이러스, 수포성구내염바이러스 등이다. 때에 따라 이들 바이러스가 투명대에 붙어 있다가 이식할 때에 비감염 수란우에 감염될 수 있다. 이 경우는 이식하기 직전 세척용 영양배지에 항혈청을 첨가하므로써 바이러스를 중화시켜 활동을 저지할 수 있다.

병원성미생물에 의한 소수정란의 감염성 조사

소수정란에 여러가지 병원성미생물을 인공감염시킬 경우 수정란에 어떤 영향을 나타내는가를 조사한 보고들이 있다.

Bowen 등(1985)은 소허피스바이러스(BHV) 4종의 균주에 24시간 노출한 배반포기수정란은 비접종한 대조구에 비하여 정상적인 발육을 할 수 없었고

Table 6과 같이 형태학적 변화를 관찰할 수 있었다.

또 BHV 4종의 균주를 10개의 수정란에 접종하였는데 이 실험에서 5개수정란을 1시간동안 BHV에 노출하였다가 세척하였고 다른 5개수정란은 24시간 동안 노출하였다가 세척하였다. 그결과 시간별 수정란의 바이러스역가의 차이에서 유의성이 인정되었고 24시간 BHV와 배양한 수정란의 평균 바이러스역가는 노출직후보다 약 10배 이상으로 높았다고 보고하였다.

이 실험에서 BHV에 감염된 소수정란은 빠른 바이러스의 증식으로 인해 수정란 자체의 변성을 일으켜 결국 사멸해 버린다는 것을 입증해주고 있다.

Singh 등(1982)은 IBR 바이러스의 10^{6-8} TCID₅₀/ml를 이식직전의 수정란에 접종하였을 때의 감염 상황을 조사하였다.

Table 6. Development of Bovine Embryos after Exposure to BHV

Virus strain	Morphologic appearance 24 hours after exposure*	
	Expanded blastocysts	Degenerating embryos
LA	0	15+
LX 1161	13	4
BFN2A	3	7 +
LX537	2	9 +
Control	7	1

(Bowen et al., 1985)

*=Exposure to $10^{7.0}$ TCID₅₀/ml for 2 hours, followed by washing in virus-free medium. +=Different from control group($p < 0.01$), Fisher's exact test.

Data are expressed as the No. of expanded, morphologically normal blastocysts or the No. of degenerating embryos observed.

Table 8에서와 같이 IBR 바이러스에 1 시간과 24 시간에 각각 노출한 후 10번씩 세척하여 바이러스의 감염도를 측정 한 결과 세척에 의하여 IBR 바이러스를 완전히 제거할 수는 없었지만 바이러스의 감염도는 크게 증가하지 않았다고 보고하였다.

Singh 등(1982)은 IBR 바이러스를 완전 제거하는 데는 세척회수를 20회까지 증가하여도 성공하지 못하였다. 그 후 그들은 감염수정란에 IBRV - 항혈청과 trypsin을 각각 처리한 후 그 감염도를 조사 하였는데 그 결과는 Table 9에서 보는 바와 같다.

항혈청 1시간처리군과 trypsin 1-2분처리군이 세척하는 것보다 효과적이었으며 수정란의 발육에는 아무런 영향도 미치지 않았다고 하였다.

Bowen 등(1983)은 부르팅바이러스(BTV)로 접종한 20두의 공란우 모두 수정란채란시의 혈액에서 역가가 높은 바이러스를 증명되었고 공란우 20두 중 Table 10과 같이 11두에서 채란된 자궁관류액에서

Table 7. BH-1 Virus Titers per Embryos, 1 and 24 Hours after Exposure to BHV

	BHV strain							
	Los Angeles		LX1161		BFN 2 A		LX537	
	1 Hr	24 Hr	1 Hr	24 Hr	1 Hr	24 Hr	1 Hr	24 Hr
	1.8	3.6	<0.7	1.7	1.8	3.4	1.8	2.7
	1.9	3.6	<0.7	2.7	1.6	3.8	1.5	2.8
	1.8	3.8	1.6	2.2	1.5	2.6	1.7	3.2
	0.7	3.1	<0.7	1.9	0.7	2.0	1.0	2.2
	2.2	2.8	<0.7	0.7	1.2	1.2	2.1	2.7
Mean	1.7	3.4	0.8	1.8	1.6	2.7	1.6	2.7
SEM	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2	0.5	6.1	0.2

(Bowen et al., 1985)

Virus titers expressed as log₁₀ plaque-forming units/embryo; titers of <0.7 plaque-forming units changed to 0.6 for calculation of mean and SEM

Table 8. Exposure of Preimplantation Bovine Embryos to 10^{6-8} TCID₅₀/ml of IBRV

	No. Embryos	Infectivity Assay		Level of Infection (TCID ₅₀ /ml)
		No. Pos.	No. Neg.	
Zero hr control	15	10	5	0 - $10^{2.4}$
1 hr virus exposure	14	8	6	0 - $10^{2.1}$
24 hr virus exposure	54	35	19	0 - $10^{2.2}$

(Singh et al., 1982)

- (a) Zero hr control embryos were exposed to the virus for either 1 or 24 hrs, washed and then assayed directly.
 (b) Embryos exposed to the virus for 1 hour were washed and cultured for 48 hours before being assayed. Those exposed for 24 hours were washed and cultured for 24 hours prior to being assayed

Table 9. Antiserum and Trypsin Treatment of Embryos exposed to 10^{6-8} TCID₅₀/ml IBRV

Conditions	No. Expts	Total No. embryos	Infectivity assay		No. developed in vitro(%)
			No. Pos.	No. Neg.	
No antiserum	3	12	8	4	9 (75%)
Antiserum for 1/2 hr	3	12	6	6	10(83%)
No antiserum	4	24	14	10	19(76%)
Antiserum for 1 hr	4	23	0	23	19(82%)
No trypsin	4	27	18	9	21(78%)
Trypsin for 1-2 min	4	32	0	32	24(75%)

(Singh et al., 1982)

Table 10. Bluetongue Virus Isolation and Serologic Test for Embryo Donors at the Time of Embryo Recovery

Virus (serotype)	Day of recovery*	Donor	AGID ⁺	Virus titer*		
				Blood	Fluid	Cells
80-26797 (10)	7-8	5868	+	4.2	N	0.2
		6254	+	6.3	N	1.2
	10-11	6196	+	3.9	N	0.3
		6233	+	5.2	N	N
STATION (11)	7-8	6261	+	5.1	N	N
		6255	+	4.0	N	0.3
	10-11	6118	+	4.9	C	C
		6120	+	3.8	N	C
ENNEN (13)	7-8	6178	N	5.5	N	0.9
		6241	N	3.2	N	N
	10-11	6157	+	5.2	N	0.1
		6215	N	3.3	N	C
MS-79 (17)	7-8	5946	N	4.5	N	0.2
		5884	+	5.7	0.1	1.3
	10-11	5878	+	5.0	N	0.5
		6165	+	4.7	N	N
62-45S (17)	7-8	6252	+	5.0	N	0.3
		6131	+	5.7	N	1.1
	10-11	6191	N	4.3	N	N
		6201	+	4.2	N	N

(Bowen et al., 1983)

* Days after the onset of estrus in the donor. + Presence of group specific serum antibodies to BTV at the time of embryo recovery; assayed by agbr gel immunodiffusion. *Titers represent log₁₀ CEVLD 50/ml (original volume) of blood or uterine flushing cells or fluid(see text).

N=virus not isolated; C=bacterial contamination.

바이러스가 분리되었다고 하였다. 또 아가젤면역확산법에 의한 BTV의 항체 검사에서 20두 중 15두에서 양성을 보여 부르팅에 감염된 공란우로부터 감

염되지 않은 수란우로의 BTV감염은 정상적인 수정란이식 조건에서는 감염되지 않는다고 결론지었다.

Bowen(1979)과 Potter 등(1984)은 소수정란을

이식하기 전에 바이러스감염여부를 결정하기 위하여 재래의 바이러스분리법은 부적당하기 때문에 그 대신에 수정란에 바이러스를 접종한 후 흡수되지 않고 남아있는 접종액의 역가를 최초의 접종액의 역가와 비교하므로 바이러스 분리에 대한 기준을 삼았다. 즉 Potter 등(1984)은 소바이러스성설사병(BVD)바이러스에 대하여 수정란이 BVDV를 이용하는 지침으로 BVDV의 역가에 의해서 Table 11과 같이 측정하였다. 또 Potter 등(1984)은 수정란을 여과 또는 희석액으로 처리하여 배양한 것과 배양하지 않은 것에 BVDV의 생존성을 Table 12와 같이 조사하였다. 그는 배양후 남아 있는 BVDV의 농도를 양적으로 역가를 측정하였다. 그결과 모든 재료는 배양후 역가가 감소되었고 인산완충액(PBSS)

Table 11. The BVD Virus Titers* as on Indicator of Virus Uptake

Date	Item	Titer
10/20/82	BVDV, without embryos	< 1
	3 live embryos with zp	1.33
10/27/82	BVDV, without embryos	1.33
	4 dead embryos with zp	< 1
	3 live embryos with zp	1.59
11/04/82	BVDV, without embryos	< 1
	6 live embryos without zp	1

(Potter et al., 1984)

*Titer of inocula after 24-hours' incubation expressed as $-\log$ TCID₅₀/0.025ml as determined in a microtiter system.

에 희석한 재료가 다른 배양액보다 낮은 역가를 보였다고 하였다.

그외 세균성 질병으로 Voelkel 등(1983)은 부르셀라양성 공란우의 자궁관류액에서 *Br. abortus*의 분리를 시도한 2가지 실험을 실시하였다.

첫째실험에서 16두의 부르셀라양성 공란우의 8두에 저농도($3.3-4.6 \times 10^4$)의 부르셀라균을 자궁내 인공접종한 후 접종하지 않은 대조우 8두와의 자궁에서 회수액을 2종의 부르셀라 분리배지에 배양하

Table 12. Titers of BVD Virus Exposed to Various Treatments*

Inocula	Medium	Titer
NOTINCUBATED		
Undiluted virus	MEM	3.5
Undiluted virus	PBSS	3.5
Diluted 1 : 2 MEM	MEM	3.33
Diluted 1 : 2 PBSS	PBSS	3.5
INCUBATED+		
Diluted 1 : 2 MEM (inc)	MEM	2.0
	PBSS	
Diluted 1 : 2 PBSS (inc)		< 1.0
Diluted 1 : 2 MEM (inc) frozen, 0.2 μ mfilter	MEM	1.8
Diluted 1 : 2 PBSS (inc) frozen, 0.2 μ mfilter	PBSS	< 1.0

(Potter et al, 1984)

*Titer expressed as $-\log$ TCID₅₀/0.025ml as determined in a Microtiter system. +Incubated at 37°C for 24 hours.

Table 13. Results of the In Vitro Culture of Medium and Embryos Recovered from Sero-Positive Donor Cows in Experiment I

Sample	No. of cows sampled	Culture medium	
		TSA	BRU
Inoculated females	8		
Pre-flush recovery medium		neg.	neg.
Post-flush recovery medium		neg.	neg.
Post-flush recovery medium spiked with <i>B. abortus</i>		+	+
Post-flush recovery medium incubated < 2 h		neg.	neg.
Post-flush recovery medium incubated < 2 h and spiked with <i>Br. abortus</i>		+	+
Embryo holding medium prior to use		neg.	neg.
Embryo holding medium with homogenized embryo residues		neg.	neg.

Control females	8		
Pre-flush recovery medium		neg.	neg.
Post-flush recovery medium		neg.	neg.
Post-flush recovery medium spiked with Br. abortus		+	+
Post-flush recovery medium inoculated <2 h and spiked with Br. abortus		+	+
Embryo holding medium prior to use		neg.	neg.
Embryo holding medium with homogenized embryo residues		neg.	neg.

(Voelkel et al., 1983)

였다. Table 13과 같이 시험한 결과 집중한 공란우에나 접종하지 않은 공란우에서 회수된 배양액에서는 부르셀라균의 증식이 없었다.

둘째 실험에서는 첫 실험과 동일한 시험도수에 고농도 ($1.5-2.5 \times 10^8$)의 부르셀라균을 자궁내 접종한 결과 회수액 중 부르셀라균을 섞은 용액에서만 분

리되었으며 시험성적은 Table 14와 같으며 내조우군과의 차이가 없었다고 하였다. 따라서 이 실험결과로 채란한 관류액 또는 회수액에서의 부르셀라의 오염성은 혈청양성인 공란우에서 수정란을 채란할 경우에는 별문제가 되지 않는다고 하였다.

Table 14. Results of the In Vitro Culture of Medium and Embryo recovered from Sero-Positive Donor Cows in Experiment II

Sample	No. of cows sampled	Result of in vitro culture
Inoculated females	8	
Pre-flush recovery medium		neg. ^a
Post-flush recovery medium		neg.
Post-flush recovery medium spiked with Br. abortus		+
Embryo holding medium prior to use		neg.
Embryo holding medium with homogenized embryo residues		neg.
Control females	8	
Pre-flush recovery medium		neg.
Post-flush recovery medium		neg.
Post-flush recovery medium spiked with Br. abortus		+
Embryo holding medium prior to use		neg.
Embryo holding medium with homogenized embryo residues		neg.

(Voelkel et al., 1983)

a : Br. abortus growth was isolated from one female (No. 507). This female did not exhibit estrus but was inoculated at appointment. The isolated organisms were identified as the inoculated strain 2308 Br. abortus and not field strain organisms.

결 론

수정란이식의 질병예방을 위한 수출입국간의 위

생규정에 따라 문제시 되는 병원체와 이에 대한 예방가능성을 검토한 결과 다음과 같이 요약할 수 있다.

1. 소수정란 수입규정은 각국에 따라 차이가 있으나 수출국은 수입국의 요구에 의하여 공란우 및 수정란검사를 실시하고 건강증명서를 첨부하고 있다.
2. 생식세포에 감염되는 병원체는 5종의 바이러스로서 수정란이식에 의하여 질병예방이 불가능하다.
3. 생식세포에 감염하지 않는 병원체는 4종의 바이러스로서 수정란이식으로 질병예방이 가능하다.
4. 투명대를 통과하는 병원체는 6종의 바이러스로서 소의 바이러스성설사병이 이에 포함된다.
5. 투명대를 통과하지 못하는 병원체는 15종의 바이러스로서 세척법과 항혈청첨가법으로 예방되며 소와 돼지의 파보바이러스, 돼지가성광견병바이러스, 소수포성구내염바이러스가 이에 해당된다.
6. 각종 병원성미생물로 인공접종한 소수정란의 감염효과를 소허피스바이러스병, 소전염성기관지염, 부르팅, 소바이러스성설사병, 소부르셀라병에 대하여 검토하였다.

參 考 文 獻

1. Bolin, S.R. and Bolin, C.A. 1984. Pseudorabies virus infection of six- and ten-day-old porcine embryos. *Theriogenology*, 22: 101-106.
2. Bowen, R.A., Elsdon, R.P., Seidel, G.E. 1985. Infection of early bovine embryos with bovine herpesvirus-1. *Am. J. Vet. Res.*, 46: 1095-1097.
3. Bowen, R.A., Howard, T.H., Eladen, R.P. and Seidel, Jr. G.E. 1983. Transfer of embryos from cattle infected with bluetongue virus. *Theriogenology*, 19: 115.
4. Bowen, R.A., Howard, T.H., Elsdon, R.P. and Seidel, Jr. G.E. 1983. Embryo transfer from cattle infected with bluetongue virus. *Am. J. Vet. Res.*, 44: 1625-1628.
5. Carmichael, R.A., Hare, W.C.D., Mapletoft, R.J., Mebus, C.A., Nelson, R.E., Seidel, S.M., Singh, E.L., Stringfellow, D.A., Thibier, M. and Wrathall, A.E. 1986. Manual of the international embryo transfer society. Section IV. Handling of embryos collected for transfer in commerce. *Embryo Transfer Newsletter*, Published by the International Embryo Transfer Society 3101 Arrowhead Road. Loporte, CO 80535, U.S.A., 4: 26-44.
6. Eaglesome, M.D., Hare, W.C.P. and Singh, E.L. 1980. Embryo transfer: A discussion on its potential for infections disease control based on a review of studies on infection of gametes and early embryos by various agents. *Can. Vet. J.*, 21: 106-112.
7. Hare, W.C.D., Mitchell, D., Singh, E.L., Bouillant, A.M.P., Eaglesome, M.D., Ruckerbauer, G.M., Bielanski, A. and Randall, G.C.B. 1985. Embryo transfer in relation to bovine leukemia virus (BLV) control and eradication. *Can. Vet. J.*, 26: 231-234.
8. Kupferschmied, H.U., Kihm, U., Bachmann, P., Muller, K.H. and Ackermann, M. 1986. Transmission of IBR/IPV virus in bovine semen; A case report. *Theriogenology*, 25: 439-443.
9. Lauerman, L.H. 1985. Stringfellow, D.A., Sparling, P.H., Caub, L.M. and Roberts, C.S. 1985. Vesicular stomatitis virus attached to zona pellucida-intact bovine embryos. *Proc. Conf. Research Workers in Animal Disease*. Chicago, IL, U.S.A., pp. 11-12 (Abstr).
10. Mallek, Z., Guerin, B., Niebart, M., Perez, M. and Thibier, M. 1984. Consequences de la contamination in vitro des embryons de souris et de vaches par *Brucella abortus*. *Bull. Acad. Vet.*, France, 57: 479-490, 1984.
11. Mapletoft, R.J. 1980. Embryo transfer for the practitioner. *Proc. 13th Ann. Meet. Am. Assoc. Bovine Pract.* Toronto, Canada., pp. 154-162.
12. Mapletoft, R.J. 1985. Embryo transfer in the cow: General procedures. *Proc. Roundtable Meet. on Sanitary Problems Related to Embryo Transfer*. Paris.
13. Mickelsen, W.D., Paisley, L.G. and Anderson, P.B. 1986. Prevalence of postservice pyometra in a herd of beef cows infected with trichomoniasis; A case report. *Theriogenology*, 25: 741-744.
14. Miller, R.B., Ruhnke, P.A., Doig, P.A., Poitras, B.J. and Palmer, N.C. 1980. The effects of *Ureaplasma diversum* inoculated into the amniotic cavity in cows. *Theriogenology*, 20:367-374.
15. Potter, M.L., Corstvet, R.E., Loooney, C.R., Fulton, R.W., Archbald, L.F. and Godke, R.A. 1984. Evaluation of bovine viral diarrhea virus

- uptake by preimplantation embryos. *Am. J. Vet. Res.*, 45: 1778-1780.
16. Ruhnke, H.L., Palmer, N.C., Doig, P.A. and Miller, R.B. 1984. Bovine abortion and neonatal death associated with *Ureaplasma diversum*. *Theriogenology*, 21: 295-301.
 17. Singh, E.L. 1984. Disease transmission: Embryo-pathogen interactions in cattle. Proc. 10th Int. Congr. Animal Reproduction and A.I. Urbana-Champaign. IV: IX-17-24.
 18. Singh, E.L. and Hare, W.C.D. 1984. A review of studies related to the transmission of bovine leukemia, infectious bovine rhinotracheitis, bovine viral diarrhoea, African swine fever and swine vesicular disease viruses by embryos through embryo transfer. Presented at the Veterinary Services Embryo Transfer Seminar, Hyattsville, U.S.A., pp.1-11.
 19. Singh, E.L., Dulac, G.C. and Hare, W.C.D. 1984. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. V. The in vitro exposure of zona pellucida-intact porcine embryos to African swine fever virus. *Theriogenology*, 22: 693-700.
 20. Singh, E.L., Eaglesome, M.D., Thomas, F.C., Papp-Vid, G. and Hare, W.C.D. 1982. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. I. The in vitro exposure of preimplantation bovine embryos to akabane, bluetongue and bovine viral diarrhoea viruses. *Theriogenology*, 17: 437-444.
 21. Singh, E.L., Thomas, F.C., Eaglesome, M.D., Papp-Vid, G. and Hare, W.C.D. 1982. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infection. II. The in vitro exposure of preimplantation bovine embryos to infectious bovine rhinotracheitis virus. *Theriogenology*, 18: 133-140.
 22. Singh, E.L., Hare, W.C.D., Thomas, F.C., Eaglesome, M.D. and Bielanski, A. 1983. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. IV. Non-transmission of infections bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis virus following trypsin treatment of exposed embryos. *Theriogenology*, 20: 169-176.
 23. Sparling, P.H. and Stringfellow, D.A. 1986. Detection of *Brucella abortus* in the cervical mucus of nulliparous heifers. *Theriogenology*, 25: 721-732.
 24. Stringfellow, D.A. 1984. Elimination or transmission of *Brucella abortus* through bovine embryo transfer. Presented at the Veterinary Services Embryo Transfer Seminar, Hyattsville, U.S.A. pp.1-5.
 25. Stringfellow, D.A., Scanlan, C.M., Brown, R.R., Meadows, G.B., Gray, B.W. and Young-White, R.R. 1984. Culture of bovine embryos after in vitro exposure to *Bucella abortus*. *Theriogenology*, 21: 1005-1012.
 26. Thomas, F.C., Singh, E.L. and Hare, W.C.D. 1983. Embryo transfer as a means of controlling viral infections. III. Non-transmission of bluetongue virus from viremic cattle. *Theriogenology*, 19: 425-431.
 27. Vahdat, F., Bey, R.F., Williamson, N.B., Whitmore, H.L., Zemjanis, R. and Robinson, R.A. 1983. Effects of intrauterine challenge with *Leptospira interrogans serovar hardjo* on fertility in cattle. *Theriogenology*, 20: 549-554.
 28. Voelkel, S.A., Stuckey, K.W., Looney, C.R., Enright, F.M., Humes, P.E. and Godke, R.A. 1983. An attempt to isolate *Brucella abortus* from uterine flushings of brucellosis reactor donor cattle. *Theriogenology*, 19: 355.
 29. Voelkel, S.A., Stuekey, K.W., Looney, C.R., Enright, F.M., Humes, P.E. and Godke, R.A. 1983. An attempt to isolate *Brucella abortus* from uterine flushings of brucellosis-reactor donor cattle. *Theriogenology*, 19: 355-366.