

백신접종 방법에 따른 뉴캐슬병 B₁ 생독백신의 효능비교

정만호 · 최정옥* · 강춘원 · 노용기

전남가축위생시험소

(1990. 8. 10. 接受)

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

Man-Ho Chung, Chung-Ok Choi*, Chun-Won Kang and Young-Ki No

Chonnam Veterinary Service Laboratory

(Received August 10, 1990)

SUMMARY

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 challenged with virulent ND virus at the dose of 10⁵ EID₅₀ per bird to examine the protection rate. Ten to 15 birds from each group were bled at two weeks intervals from day old to 8 weeks of age to determine 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 10^{2.5} EID₅₀ per bird.

Spray method gave better protection compared to eye instillation of drinking water method which resulted in lowest response.

When birds were challenged majority showed clinical signs on ND between 3 and 6 days after challenge. Death occurred one or two days after onset of symptoms. Major clinical signs observed were depression (96%), drowsy (90%), anorexia (84%), diarrhoea (29%), difficult breath (15%) and torticollis (10%).

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

* 전남대학교 수의과대학 (College of Veterinary Medicine Chonnam National University)

When birds were challenged majority showed clinical signs on ND between 3 and 6 days after challenge. Death occurred one or two days after onset of symptoms. Major clinical signs observed were depression (96%), drowsy(90%), anorexia (84%), diarrhoea (29%), difficult breath (15%) and torticollis (10%).

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

I. 서 론

우리나라는 뉴캐슬병의 상재지로 거의 매년 발생하고 최근 1988년 부터 금년 초까지 전국적으로 발생하여 육계나 산란계나 할 것없이 상당한 피해를 주고 있다. 뉴캐슬병 바이러스는 아직까지는 한가지 혈청형으로 알려져 있기 때문에 시중에 나와 있는 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, 1982)과 유사하다. 즉 뉴캐슬병 발생의 위험도가 높은 지역에서 생독을 사용할 경우 기초접종으로 1차 1~4일령, 2차 2주령, 3차 4주령에 실시하고 보강접종으로 4차를 2개월령에 실시하고 다시 2~3개월 간격으로 접종하도록 권장하고 있다. 본 실험에서는 뉴캐슬병이 산란계에서도 문제지만 육용계에서는 더욱 문제가 되므로 4주령까지의 어린일령에 생독 B₁ 백신접종방법을 달리하여 1회에서 3회 접종할 경우의 효능을 실용산란계에서 비교하였다.

II. 재료 및 방법

병아리 : 1일령 병아리는 갈색산란계로서 고창 부화장에서 구입하여 사용하였다.

바이러스 : 백신주로 B₁주는 국내제조회사에서 제조한 백신(B제품 lot. No. 69유생 07)으로서 같은 lot를 일시에 구입하여 -20°C에 보관하면서 사용하였다. 공격주로는 교정원주를 안양가축위생연구소에서 분양받아 전남대학교에서 제대보관한 것을 사용하였다.

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

점안접종은 백신을 증류수 25 ml에 1수분이 함유되도록 희석하여 한쪽 눈에 25 ml씩 dropper로 접종하였다. 분무접종은 skim milk 1%가 포함된 증류수 2~3 ml에 바이러스를 1수분이 들어가도록 희석하여 가정에서 보통 사용하는 소형 플라스틱 수동 분무기(총량 1 l)를 이용하여 병아리의 1m 높이에서 분무하였다.

공격접종 : 교정원을 1수당 10⁵EID₅₀씩 대퇴부 근육내(0.2 ml)에 접종하였다.

혈구응집억제반응(HI test) : 각각의 혈청을 한대 모아 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 나머지군은 백신접종을 하지않는 대조군으로 하여 각 군을 구분해서 따로 사육하였다. 14일령때 각 군

에서 30수씩 꺼내어 반수인 15수는 공격접종하고 다른 15수는 4주령때 공격접종하기 위해서 별도 사육하였다. 작군에 남은 63수는 음수, 점안, 분무로 각각 2차 접종을 실시하였으며 대조군 163수는 그대로 사육하였다. 28일령때 작군에서 30수씩 꺼내어, 반수는 공격접종하고 다른 반수는 2주후에 다시 공격접종하기 위해 별도 사육하였다. 작군에 나머지 33수는 음수, 점안, 분무방법으로 각각 3차 백신접종을 실시하였으며 대조 33수는 그대로 사육하였다. 42일령때 3차 접종한 작군 33수 중 15수를 공격접종하고 나머지는 56일령때 공격접종하였다. 공격접종한 닭들은 별도로 격리 계사에 같이 사육하면서 매일 임상증상발견유무를 관찰하였으며 죽은 닭과 2주째 살아남은 닭은 모두 부검하여 병변 유무를 확인하였다. 매 공격접종할 때마다 작군에서 9~20수씩 무작위로 선발하여 수당 1~2ml씩 채혈하고 혈청을 분리한 후 HI 항체를 검사하기 위하여 -20℃에 보관하였다.

바이러스역가 검사: 백신바이러스와 공격바이러스는 10 배수 희석하여 희석배수별로 5개씩의 NDV항체가 없는 10일령의 발육난에 접종한 후 5일간 관찰하고 노막강액에서 혈구응집능 유무를 기준으로 50% 발육난감염량(EID₅₀)을 산출하였다.

III. 결 과

바이러스역가: B₁ 백신 바이러스의 역가는 수당 10^{8.4} EID₅₀ 이었다.

HI 항체가 백신접종이나 비접종대조군의 HI 항체는 표1과 같다. 1일령일때 log 2로 6.4의 모체 이행항체를 보유하고 있었으며 비접종대조군에서는 2주령때 1.8, 4주령때 0.9로 최저수준에 이른 다음 6주령에 1.3, 8주령에 1.6의 낮은 수준을 유지하였다. 대체적으로 백신접종의 횟수나 방법에 관계없이 백신 접종하지 않은 대조군에 비해서 유의성 있는 항체가의 상승은 관찰되지 않았다. 단지 1일령에 1회접종한 군에서는 2주령때 비접종군에 비해서 모체이행항체의 하강속도가 완만하였으며 특이적으로 1주령때 1회 분무 접종한 계군에서만은 4주령때의 HI 가가 대조군보다 뚜렷이 더 높은(평균 4.0) 현상을 나타냈다.

방어율: 방어율은 공격접종 후 폐사율(표2)와 임상

증상(표3)을 기준으로 하여 각각 따로 산출해 보았다. 폐사율을 기준으로 했을때 1차 백신접종의 경우 음수, 점안, 분무 어느경우도 2주후에 유의성있는 방어율을 나타내지 않았으며 4주후에는 점안접종군만이 유의성있는 방어율을 나타냈다. 2차, 3차 접종은 경우 최종 접종 2주후의 방어율은 음수, 점안, 분무 모두 유의성있는 방어율을 나타냈으나 접종 4주후에는 분무 접종군만이 유의성있는 방어율을 보여주었다.

임상증상발현까지를 기준으로 하여 방어율을 산출할 경우 1회 백신접종으로서는 어떤 접종 방법도 4주간 동안 효과적인 방어율을 가져오지 않았으며 음수나 점안 접종은 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(표4). 접종후 빠른 경우 2일부터 나타나 3일에서 6일 사이에 집중적으로 임상증상을 보였으며 7일부터는 드물게 한두마리가 발병하였다. 임상증상은 원기저하(95.8%), 기면(89.7%), 식욕저하(84.1%), 설사(26.5%), 호흡곤란(14.8%), 사경(10.2%), 보행창랑(8.3%), 후궁만장(5.5%), 선회운동(3.7%) 등의 증상을 보였다(표5).

폐사는 공격접종후 3일째부터 나타났으며 5일째부터 나타났으며 5일째에 최고치에 도달한후 7일째까지 높은 폐사율을 보이다가 8일째부터는 현저히 감소하였다(표4). 부검소견은 여러장기에서 출혈만을 나타냈는데 폐사한 닭이나 임상증상을 보인 닭의 51%에서 십이지장 출혈반을 보였고 다음 기관점막(36%), 회장부위(13%), 맹장기시부(11%)의 순이었다. 약 10%가 선위 출혈반을 보였으며 심장 관상동맥 주변의 지방조직에서는 약 2%의 부검제에서만 출혈반이 나타났다(표6).

IV. 고 찰

B₁바이러스처럼 병원성이 약한 생독 백신의 경우 효과적인 방어능을 가져오기 위해서는 1수당 바이러스 함유량이 10⁸EID₅₀(Box 등 1976) 또는 10⁷EID₅₀ 이상(Allan 등 1978) 이어야 한다. 우리나라 검정 규정

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

Vaccination		Age	No. of	Mean HI	antibody titer
Methods	times*	in weeks	samples		(O _{g₂} + SD)
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.

Table 2. Protection rate based on mortality against Newcastle disease in chickens vaccinated with B₁ strain by different methods

Vaccination		Age (weeks)	Weeks after vaccination	No. of birds challenged	No. of birds dead(%)	Protection rate(%)
Times	Methods					
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)	
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

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

Vaccination		Age (weeks)	Weeks after vaccination	No. of birds challenged	No. of birds dead or with signs(%)	Protection rate(%)
Times	Methods					
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

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	Total
Nonvaccinated control	91		1	14	27	12	6	3	1					2	1	67
Water	94				(8)	(27)	(13)	(5)		(1)	(1)	(1)			(2)	(58)
Eye	93			15	14	12	9		2					2	3	57
Spray	94			(2)	(4)	(16)	(4)	(4)				(2)			(2)	(34)
Water	94			9	16	16	7		2			1		1	4	56
Eye	93			(1)	(3)	(11)	(18)	(2)						(1)	(36)	
Spray	94		1	3	12	8	6					3		1	1	35
Water	94			(2)	(3)	(6)	(4)	(4)				(3)				(22)

에도 최소한 10^6 EID₅₀ 이상이어야 한다(Anon 1972). 그러나 본시험에 사용한 백신은 바이러스 함량이 10^8 EID₅₀ 이하로서 기준이하의 함량을 가진 백신이었다. 그러므로 혈청의 HI 역가나 방어율이 전반적으로 높지 못한 결과를 가져온 것으로 여겨진다.

1일령때 1회 백신접종은 접종방법에 상관없이 백신접종하지 않은 대조군과 HI 가나 방어율에서 차이를 보이지 않았다. 2회 및 3회 접종시에는 1회 접종시 보다는 전반적으로 높아졌으나 분무접종을 제외하고는 유의성있는 방어율을 보이지 않았다. 음수접종에 비해서는 점안접종이 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 접종량도 최등(1988)이 시험에 사용한 양과 비슷한 것으로서 그 성적에서는 시험구에 따라 100% 방어율을 나타내고 있는 것으로 보아 공격 접종량이 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 관리하였다고는 하나 백신접종군에서 백신 바이러스가 대조군에서 오염되었던 것으로 여겨진다. 6주, 8주때 대조군에서 HI 항체가가 다소 증가하는 것으로도 이를 알 수 있다.

이 시험성적은 야외에서 실용체에 백신접종을 권장 프로그램대로 실시하더라도 높은 농도로 강독 바이러스에 노출될 경우 뉴캐슬병이 발병할 수 있다는 것을 말해준다. 더구나 백신의 함량이 낮을 경우 음수접종을 8주령 이내에 여러번 접종하더라도 만족할만한 방어율을 기대할 수 없다는 것을 보여준다. 백신의 역가가 낮은 이유는 수송과정이나 보관과정에서 낮아졌는지 제조 당시부터 낮아졌는지는 알 수 없으나 각 과정에서 백신의 역가가 낮아지지 않도록 최선을 다해야 하겠다.

V. 요 약

실용 산란계 병아리에 대해서 시중에서 유통되고 있

는 B₁ 생독 뉴캐슬병백신의 효능을 접종방법과 접종횟수를 달리하여 비교하였다. 실용산란계 372수를 93수씩 4군으로 나눈후 3군에 대해서는 각각 음수, 점안, 분무방법으로 28일령까지 3회에 걸쳐 백신을 접종하였고 나머지 1군은 백신을 접종하지 않은 대조군으로 하였다. 매회 백신접종 2주, 4주후에 강독 바이러스로 공격접종하여 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. 공격접종 후 뉴캐슬병 임상증상은 84% 이상에서 원기 및 식욕저하와 기면을 보였고 27%에서 설사, 15%에서 호흡곤란, 10%에서는 사경을 보였다. 부견소견상 출혈반은 십이지장(51%), 기관(36%), 회장(13%), 맹장편도(11%), 선위(10%) 순으로 관찰되었다.

VI. 引用文獻

1. Allan W. H., J. E. Lancaster and B. Toth. 1978 : Newcastle disease vaccine. FAO Animal Product and Health Series No. 10.
2. Anon. 1972 : 동물용 생물학적 제제편람 : 농촌진흥청 가축 위생연구소 pp : 60~64.
3. Box. P. G., I. G. S. Furnrigger, 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 Gottfried. 1977 : Spray vaccination of chickens with an experimental vaccine against Newcastle disease. Avian Pathology 6 : 251~258.
5. 崔晶鈺, 朴丞桂, 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. Pout. Sci. 15 : 193~198.
6. 吉田勲. 1982 : ニュカウツスル病. 鷄病診斷, 堀内貞治編. pp : 21~46.