

국내 분리 닭 전염성 기관지염 바이러스 성상에 관한 연구

이청산 · 조우영 · 최윤식

충청북도 가축위생시험소 남부지소

김순재

건국대학교 수의학과

Studies on the Characters of Avian Infectious Bronchitis Virus Isolated in Korea.

Cheong-San Lee, Woo-Young Cho, Yun-Sic Choi

Southern Branch of Chung buk Veterinary Service Laboratory

Soon-Jae Kim

Department of Veterinary Medicine, Kon-Kuk University

Abstract

In order to investigate the biological properties, pathogenicity and immune responses in artificially infected SPF chickens with Avian infectious bronchitis virus that was isolated from chickens showing IB like signs in southern region of Chung buk.

Results obtained through the experiments are summarized as follows.

1. From 15 IB suspected cases, two strains of IB virus were isolated, one each from the tracheas and lungs.
2. Infectious bronchitis specific embryo lesions were observed after four serial passages of the isolates in chicken embryos.
3. The field isolates and M-41 strain of IB virus interfered with the replication of Newcastle disease virus in chicken embryos.
4. When specific pathogen free chickens, two week old, were inoculated with the IB virus isolates, clinical respiratory signs as dyspnea, coughing were observed. Airsacculitis was observed by necropsy.
5. AGP antibody positive rates of inoculated SPF chickens were highest on day 14 and lowest on day 3 6, while HI antibody responses were detected on day 14 in all Groups, the reinoculated Group was shown highest titers.
6. By Indirect immunofluorescence antibody assay of artificially infected SPF chickens, the viral antigens were detected in tissues of larynx, trachea and lung on the 4 th to 7 th days post inoculation.

Key Word : IB virus, dyspnea, coughing, airsacculitis

緒 論

닭 전염성 기관지염(Avian infectious bronchitis)은 Coronavirus에 속하는 IBvirus에 의해서 발생하는 급성 전염병¹⁾으로 전파 속도가 빠르고 기관라음, 기침, 재채기 등의 호흡기 증상과 더불어 산란중인 닭에서는 산란율을 저하, 어린 병아리에서는 체중 감소와 사료 효율 저하 및 수란관에 영구적인 손상으로 무산계가 되기도 하며 마이코플라스마 및 뉴캐슬병 바이러스와 더불어 기낭염을 일으키는 질병이다.^{1, 2, 3)}

미국의 North Dakota주에서 최초로 관찰되었고⁴⁾ Beach와 Schalm(1936)에 의해서 병원체가 분리되었으며⁵⁾ 당시에는 주로 어린 병아리에 국한해서 호흡기 증상이 나타났으나 40년대 부터는 산란계에서 호흡기 질병과 산란율 저하가 나타났고, 50년대 중반에는 백신개발로 그 피해가 감소되었으나 아직도 전세계적으로 발생하여 양계 산업에 큰 피해를 주고 있다.¹⁾

우리나라에서는 IBV의 감염이 60년대에 혈청학적으로 확인되었으나 임상 증상은 확인되지 않았으며^{6, 7)} 김등(1980)에 의해 면역 확산법으로 항체 보유율이 보고된 이후 이등(1986)이 산란율이 감소한 농장에서 혈구 응집 억제반응(HI)으로 IB항체를 증명하고 IBV를 분리동정함으로써 국내에서 최초로 IB가 실제로 발생함을 보고하였다.⁹⁾ 그뒤 한과 김(1988)은 야외 계군으로부터 발육계란과 계태아 간 세포 배양 등으로 IBV를 분리 동정하였다.¹⁰⁾

본 연구에서는 본 시험소 관내 양계장에서 분리한 IBV의 분리과정 및 생물학적 성상과 분리된 IBV를 SPF닭에 인공 감염시켜 나타나는 병원성, 항체 역가 추이, 조직내 항원성을 파악하기 위해서 일련의 실험을 수행하였다.

材料 및 方法

조사 대상 계군

충북 남부 지역 양계장에 대한 혈청검사를 수행 중 산란계와 종계의 경우는 산란 저하와 기형란을 주증상으로 하며 호흡기증상, 녹변 등을 수반하는 계군을 조사 대상으로 하였으며, 육계와 어린 병아

리에 있어서는 호흡기 증상을 보이며 증체 저하, 설사 증상을 나타내는 계군을 조사 대상으로 하였다.

발육계란 및 바이러스

바이러스의 분리, 세포배양 및 사용한 발육 계란은 SPF계란을 실험실에서 부화하면서 사용하였으며, IBV로는 M-41주를 사용하였다.

세포 배양

계태아 간(Chicken embryo liver, CEL) 배양 세포를 사용하였으며, 세포 배양은 14일령의 계태아 간 조직을 0.05% trypsin으로 6~8시간 소화시킨 후 소화된 간세포를 3겹의 거즈로 여과하고 그 여액을 1차 원심분리하여 상층액을 버린후 침전 세포를 CMF-PBS로 2회 세척한 후 세척된 간세포를 증식 배지에 부유하여 1,500rpm에 5분간 원심하여 증식 배지에 1 : 100 ~ 1 : 150으로 부유하여 멸균된 시험관에 1ml씩 분주하였다.

단층세포의 형성은 배양 2~3일 후에 형성되었으며 3~4일 간격으로 유지 배지로 교환하여 주었다.^{11, 12)}

바이러스 분리

Infectious bronchitis로 의심되는 병계로 부터 Virus 분리용 조직 재료를 무균적으로 채취한 후 flumequine 500 μ g, gentamicin sulfate 250 μ g이 함유된 CMF-PBS에 약 10%가 되도록 유제하였으며 4%에서 24시간 정치시킨 후 1,500rpm으로 10분간 원심 분리한 뒤 상층액을 채취하였다.

채취한 상층액을 CEL배양 세포와 8~10일령된 발육계란의 요막강(Allantoic Cavity, AC)과 장요막(Chorioallantoic membrane, CAM)에 접종하였다.

10일~12일동안 2대까지 계대 배양한 CEL배양 세포에서 세포 변성효과(Cytopathic effect, CPE)가 나타나지 않고, 접종 후 7일에 채취한 요막액(Allantoic fluid, AF)이 적혈구 응집 반응 음성이며, 또한 CAM에 접종한 후 7일에 채취한 장요막에 pock 형성, 비후 등의 육안적 병변이 관찰되지 않았

을 때 채취한 AF를 $\frac{1}{10}$ 로 희석하여 재차 CEL배양 세포에 접종하여 접종후 6일에 CEL배양 세포에 아무런 CPE가 일어나지 않으면 IBV가 존재하는 것으로 간주하여 채취한 AF를 $\frac{1}{10}$ 로 희석한 후 발육 계란의 AC에 접종하여 IBV에 의한 계태아 병변이 부분적으로 관찰될 때까지 계대 배양하였다.^{13, 15, 25)}

IB Virus에 의한 NDV의 증식 방해 시험

야외에서 분리한 Virus2주와 M-41주 Virus를 각각 $\frac{1}{10}$ 로 희석한 후 9일령된 발육계란의 AC로 0.1ml씩 각주당 10개씩 접종하였다. 이때 IBV에 대한 대조군에는 멸균된 CMF-PBS를 같은 방법으로 접종하였다.

접종후 10시간~18시간에 B₁NDV를 10^{2.03}EID₅₀/0.1ml씩 접종하였다. NDV를 접종한 후 24시간, 36시간, 72시간에 AF를 채취하여 microplate에서 적혈구 응집억제를 측정하였다.^{14, 27)}

혈청학적 검사

IB의 질병에 대한 혈청반응

검사에 사용한 혈청은 마이코푸라즈마병 혈청평판 응집반응(Serum Plate agglutination, SPA)을 실시하고 56℃에서 30분간 불활화한 후 -20℃에서 보관하면서 사용하였으며, ND와 EDS'76은 적혈구 응집억제 반응(Hemagglutination inhibition, HI)으로, ILT은 CEL배양 세포를 이용한 혈청중화 반응(Serum neutralization, SE)으로, AE은 한천 겔 침강 반응(Agar gel precipitation, AGP)으로 검사하였다.

IB에 대한 혈청반응

한천 겔 침강 반응(AGP)

항원은 가축위생 연구소에서 분양받아 사용하였으며 침강 반응에 사용한 gel평판은 증류수에 NaCl 8%, Purified agar 0.7%, Polyethylene glycol 2%가 되게 용해한 후 6ml의 gel을 Slideglass에 깔아서 굳힌 후 사용하였다.

적혈구 응집 억제 반응(HI)

가축위생 연구소에서 M-41Virus항원을 분양받아 사용하였으며, microplate에 적혈구 희석용 PBS를 Well당 25μ씩 채운뒤 첫번째 Well에 혈청을 25μ씩 넣고 dilutor로 2진 희석한 후 4HAunit로 희석한 항원을 25μ씩 떨어뜨렸다. 4℃에서 15분간 반응한 후 1%의 닭적혈구를 25μ씩 떨어뜨리고 microplate를 잘 흔들어 섞이게한 뒤 4℃에서 45분간 반응케 하였다. 결과는 적혈구 응집이 억제되는 최대 희석 배수를 log₂의 역수로 표시하였다.¹⁶⁾

IB Virus의 닭 인공감염

접종 바이러스의 준비

야외에서 분리한 2주와 M-41IBV를 SPF닭에 접종하였으며 접종에 사용한 Virus의 역가와 발육 계란내 배양수는 표1과 같다. 1차 접종시에는 발육 계란에서 72시간동안 증식한 바이러스를 희석치 않고 사용하였다. 2차 접종 재료는 발육계란에서 48시간 동안 배양후 채취한 AF를 4℃에서 8,000×g로 40분간 원심분리후 상층액을 채취하여 다시 4%에서 30,000×g로 2시간동안 원심분리 하였다. 침전물을 HBS(Hepes-buffered saline)로 원 용액의 $\frac{1}{100}$ 되게 부유하였다. formalin을 최종농도 0.05%되게 첨가하여 37℃에서 24시간 동안 불활화하였다. 불활화된 바이러스를 동량의 수산화 겔 알루미늄과 혼합하였다.

SPF닭 접종

2주령의 SPF닭 50수를 4개군으로 나누어 3개군은 M-41IBV와 야외 분리주를 감염시키고 나머지 한군은 무감염 대조군으로 하였다. 최초 생바이러스의 접종을 수당 0.1ml씩 기관으로 하였으며 1차 접종 후 4주에 각 감염군에서 2수씩 선발하여 동종의 불활화 바이러스를 수당 0.2ml씩 근육 접종하였다.

1차 접종 직전, 1차 접종 2주 후와 3주 후, 그리고 불활화 바이러스 접종 8일 후에 채혈하여 혈청 반응을 실시하였다.

또한 접종 4일 후부터 분리주별로 1수씩 부검하여 병원성 조사 및 간접 형광 항체법을 이용한 조직 내 항원 친화성 여부를 검사하였다.¹⁷⁾

Table 1. Infectivity titers of IBV M-41 and field isolates.

Virus	Passage No in chicken		Infectivity titer (log ₁₀ EID ₅₀ / 0.1ml)
	embryo		
B ₈	7		6.0
C ₇	7		5.2
M-41	6		5.4

結 果

IB Virus 분리 상황

본 시험소 관내 양계장에 대한 혈청검사 수행 중 병력과 증상이 IB로 의심되는 닭 가검물 총 15건 중 2주의 IB양 바이러스를 분리하였다.

분리된 Virus는 발육계란에 계대 배양시 계태아의 폐사 위축이 나타났으며 CEL배양 세포에서는 CPE를 나타내지 않아 일단 IBV로 간주하였으며 분리된 장기는 기관과 폐에서 각각 1주씩이었다.

분리 바이러스와 발육계란 적응 및 감염역가 조사

분리된 IBV에 의한 계태아 병변을 관찰하기 위하여 발육계란에서 계대 배양을 하였다.

표2는 재료를 접종한 6개의 발육계란에서 7일간 배양한 3개의 계태아 중 하나라도 부분적인 병변(계태아의 위축, 신장의 노산 침착 등)을 나타내는 최초의 계대 배양수를 표시하였다.

보통 계대 배양 초기의 병변은 신장에 노산 침착을 나타내다가 계태아의 위축 폐사 등으로 발전하는 양상을 띠나 B₈은 계태아 병변이 보이기 전에 계태아가 죽는 양상을 보였다.

발육계란에 6~7대 계대된 IBVirus주와 M-41주의 감염역가(log₁₀EID₅₀/0.1ml)는 표1과 같다.

M-41주는 감염역가가 5.4인데 비해 7대 계대한 분리주 B₈은 6.0으로 가장 높은 감염 역가를 보였다.

Table 2. Minimum passage numbers of IBVirus isolates to show IBV lesions in chicken embryos.

Isolate No.	Passage No*
B ₈	4
C ₇	4

* Passage numbers at which any of the 3 embryos inoculated began to show dwarfing or mesonephrose containing urate.

Table 3. Interference of IBV isolates with the replication of B₁NDV in chicken embryos.

Virus	IBV dose (log ₂ EID ₅₀) / 0.1ml)	IBV-NDV Inoculation interval(Hours)	Hours after inoculation of B ₁ NDV			
			24	36	48	72
			B ₈	6.0	10	0 / 5*
C ₇	5.2	18	0 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 4(4.0)
M-41	5.4	18	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
NDV	—	—	0 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Control	—	—		(6.1)	(7.3)	(9.2)

* No. of eggs showing HA activity / No. of eggs tested.

** Figures in parentheses are mean HA titers(log₂) of eggs showing HA activity.

발육 계란에서의 IBVirus에 의한 NDV증식방해

발육 계란에 NDV를 단독으로 접종하였을 때, 접종후 24시간에는 적혈구 응집능력을 검출할 수 없었으나, 접종후 36, 48, 72시간에는 모든 발육 계란에서 적혈구 응집 능력을 검출할 수 있었으며 적혈구 응집가도 6.1, 7.3 및 9.2log₂로 시간이 경과함에 따라 상승하였다.(표3)

한편, NDV접종 10~18시간전에 IBV를 접종한 발육계란에서는 NDV접종 후 36시간까지 적혈구 응집능력을 전혀 검출할 수 없었다. NDV접종 18시간전에 IBVM-41주를 접종한 군에서는 NDV접종 후 72시간에도 적혈구 응집능력을 검출할 수 없었으며, 적혈구 응집이 관찰된 군에서도 그 역가는 2.0~4.01 log₂로 NDV를 단독으로 접종한 경우의 역가(9.2 log₂)보다 낮은 역가이다.

분리된 IBV의 양계장에 대한 혈청학적 조사

A 농장의 경우, 34주령의 갈색 산란계를 3,600수 사육하고 있었으며, 백신 접종 상황을 살펴본바 ND백신 접종을 17주령(불활화바이러스겔 백신), 26주령(B₁생바이러스 백신), 31주령(불활화바이러

스켈 백신)에 실시되었으며 ILT, AE, 계두(Fowl pox), IBD의 백신 접종은 모두 10~18주령 사이에 1회씩 실시된 계군이였다.

34주령시 기형란을 낳거나 뚜렷한 호흡기 증상을 보이는 병계 7수를 선발하여 부검해본 결과 복강내 난추, 수란관의 위축 및 Cyst화, 폐렴, 기관염 등이 관찰되었으며 IBV B₈를 폐로부터 분리하였다.

B 농장 경우, 25주령의 갈색 산란계 5,300수가 사육되고 있었으며 백신 접종 내력은 1주령, 2주령 및 3주령에 각각 B₁ND백신을 음수 접종하고 11주령때 ND겔 백신, 19주령때 ND와 EDS'76혼합 백신 (Oil emulsion type), 6주령때 FP백신, 7주령때 ILT백신을 접종하였다.

녹변과 기침을 동반하는 호흡기 증상이 관찰되었으며 증상이 관찰된 지 3~4일 후 산란율이 감소하기 시작하여 17일 후에는 산란율이 89%에서 44%~60%로 감소하였다. 병계 2수에 대한 부검 결과 기관내 삼출물, 난포의 기형 또는 혈종, 수란관의 위축이 주된 병변 소견이었으며 C₇이 기관이로부터 분리되었다.

이 두 농장에 대한 혈청학적 조사는 표4와 같다.

Table. 4. Serological test results of case A, B

Farms	No. of chickens	I B		ND	MG	AE	ILT
		HI	AGP				
A	7	7.1	6/7	6.7	7/7	7/7	0/7
B	15	6.3	10/15	6.7	15/15	13/15	6/15

Table. 5. Pathogenesis of infectious IBVirus in 14day old chickens.

Isolates	No. of chickens	Inoculum*	Respiratory sign		Airsacculitis
			Dyspnea	Coughing	
B ₈	5	0.1	3/5**	2/5	1/5
C ₇	5	0.1	4/5	2/5	1/5
M-41	5	0.1	4/5	4/5	1/5
Control	3	0.1	—	—	—

* Inoculation route : Intrachea

** No. of positive / No. of tested

실험동물접종

IBV인공 감염계의 병원성

IBV와 M-41주를 SPF닭에 대한 병원성을 보기 위해 표5와 같이 인공 감염시켰다.

분리주별로 0.1ml씩 기관내 접종한 결과 B₈주는 5수중 3수가 골골하는 호흡곤란과 2수가 기침을 하였으며, 2주 후 부검하였을때 1수가 기낭염의 병변이 관찰되었다. C₇주에서는 4수, 2수 및 1수가 골골하는 호흡곤란, 기침 및 기낭염의 병변이 관찰

되었으며, M-41주는 표5에서 보는 바와 같다.

IBV인공감염계의 면역반응

IBV분리주와 M-41주를 인공접종한 닭에서의 AGP항체 반응은 표6와 같다.

모든 군에서는 생바이러스를 접종한 후 14일과 21일 AGP항체가 검출되었으나, 36일에는 M-41주를 접종한 3수중 1수가 검출되었다. 또한 생바이러스 접종 4주 후에 불활화 바이러스를 재접종한 군에서는 재접종 8일 후에 분리주 B₈과 C₇에서는 항체가 검출되지 않았으나 M-41주에서는 1수가 검출되었다.

Table 6. Agar gel precipitation antibody responses in chicken experimentally infected with IBV isolates and M-41

Isolates	Days after first inoculation			
	0	14	21	36
B ₈	0/5*	4/5	3/5	0/3(0/2)**
C ₇	0/5	1/5	3/5	0/3(0/2)
M-41	0/5	4/5	2/5	1/3(1/2)
Control	0/5	0/5	0/5	0/5

* No. of positive responses / No. of tested

** Figures in parentheses represent antibody responses of the chickens reinoculated with inactivated virus 28days after the first inoculation

또한 분리주별 인공 감염계군에서의 HI항체 반응은 표7에서와 같이 접종후 14일에 모든 접종군에서 항체가 검출되었으나, 분리주 C₇과 M-41주는 21일 또는 36일보다 높은 항체 수준을 보여 주었으

며, 1차 접종후 4주에 각 분리주별로 2수씩 불활화 바이러스를 접종한 닭에서는 2차 접종 8일후에 매우 높은 항체 수준을 보여 주었다.

Table 7. HI antibody Responses in chickens experimentally infected with IBV isolates and M-41

Isolates	No. of chickens	Days after first inoculation		
		14	21	36
B ₈	5	4.5	4.8	3.7(6.5)
C ₇	5	3.8	4.8	5.5(8.0)
M-41	5	3.7	4.0	5.0(7.5)
Control	5	—	—	—

IBV인공감염계의 간접 형광 항체 실험

IBV분리주와 M-41주를 SPF닭에 대한 조직내 항원분포를 보기위해 IBV-mono-clonal antibody를 이용한 간접 형광 항체법을 검사한 바 표8과 같다.

접종 4일 후부터 분리주별로 1수씩 부검하여 각 조직으로 부터 IBV항원을 검사하였던 바, 후두, 기관, 폐로부터 IBV항원이 인정되어 IBV의 조직내 친화성은 호흡기관임을 증명할 수 있었으며 IBV항원은 접종후 7일까지 검출되었다.

Table. 8. Presence of infectious bronchitis virus antigen in organs in organs of the chickens experimentally infected with IBV isolates and M-41.

Days after inoculation	4			7			14			Control
	B ₈	C ₇	M-41	B ₈	C ₇	M-41	B ₈	C ₇	M-41	
Larynx	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Trachea	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
Lung	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kidney	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

考 察

Duff등(1971)은 IBV에 감염되는 닭의 나이에 생식기계의 손상 정도는 일정한 관계가 있으며 1일령의 병아리에 IBV를 인공감염시켰을 때 산란주령에 도달하여도 난소와 수란관은 성숙되지 못했다고 하였다.¹⁸⁾ 또한 Broad foot등(1956)은 2주령된 닭에 IBV를 감염시켰을 때 수란관에 기형을 초래하여 일생동안 산란하지 못했다고 하였다.¹⁹⁾ Crinion등(1971)은 IBV에 감염된 닭에서 수란관에 Cyst가 형성되면 그 부위는 주로 대공부(Mugnum)와 협부(Ishmus)라고 하였다.²⁰⁾

본 연구에서도 산란중인 성체가 IBV에 감염되었을시 이는 매우 드문 경우였으며 오히려 퇴화된 우측 수란관의 총배설강쪽 기시부에 다양한 크기의 Cyst형성이 아주 흔한 부검 소견으로 관찰되어 진단적 가치가 있는 것으로 여겨진다.

또한 IBV에 감염된 닭에서 Mycoplasma나 대장균의 2차 감염에 의한 피해는 여러 학자들에 보고된 바 있으며(Fabricant와 Levine, 1962; Kleven등, 1972; Hopkins와 Yoder, 1982; Hofstad, 1984) IBV에 일단 감염되면 세균에 대한 호흡기도의 감수성이 높아져서 기낭염을 일으키게 된다고 하였다.

또한 Mycoplasma가 상재하는 곳에서 IB백신을 실시할 경우 기낭염의 발생이 증가된다고 하였다. 따라서 산란중인 성체에서 IBV감염 후 산란율의 감소 정도 및 기간은 2차세균 감염 정도에 따라 크게 영향을 받는 것으로 여겨진다.^{1, 21, 22, 23)}

장기별 바이러스 분리 상황은 기관과 폐에서 각각 1주씩 분리되었다. IBV의 감염 목표가 되는 주된 장기는 호흡기 계통이며(Cunningham, 1970

; Darbyshire 등, 1976) 비록 인공감염 후 IBV를 총배설강, 비장, 간장, 췌장 등에서 분리하였으나 주된 분리 장기는 호흡기관이었다고 하였다.^{24, 25)} Dabyshire 등(1976)은 IBV의 조직내 친화성은 비장, 기관, 기낭, 폐, 선위점막, 갑상선, 난포, 수란관의 순서로 낮아진다고 하였고, 감염양이 많을 때는 결막, 맹장, 편도, 고환, F낭에서도 IBV를 분리할 수 있었으나 식도와 총배설강에서는 IBV가 분리되지 않았다고 하였다. 본 연구에서 호흡기관으로부터의 IBV 분리율이 높은 것은 국내에서 유행하는 IBV가 대부분 호흡기계에 친화성이 있기 때문이라고 생각된다.

발육계란에서의 IBV의 특징적인 병변, 즉 계태아의 폐사, 위축, 요막액의 증가, 신장의 노산 침착 등은 백신바이러스인 경우에는 초기 계대배양시 나타나나 야외 바이러스는 여러대 계대 배양한 후에 나타난다. 따라서 Lukert(1980)는 야외 IBV 분리시 최소 3대 일반적으로 5대까지 blind passage 할 것을 권장하고 있다.

본 연구에서는 분리주 2주를 발육계란에서 4대 계대 배양한 후에 병변을 보이기 시작한 바, 이 바이러스들은 백신바이러스이기 보다는 야외 바이러스일 가능성이 높은 것으로 여겨진다.²⁶⁾

IBV분리주의 성상을 파악하기 위해 발육계란에서의 IBV에 의한 NDV의 증식 방해 현상을 관찰하였다. NDV를 단독으로 접종한 후 적혈구 응집이 관찰되는 시간은 접종후 24시간~36시간 사이였다. 이는 Raggi와 Lee(1963)가 보고²⁷⁾한 17시간에 비하여 지연된 결과는 발육계란의 모체 이행 항체가 NDV의 증식을 방해하거나 접종된 NDV의 양이 지나치게 적었던데 기인된 것으로 추측된다. IBV

를 접종하고 18시간 후에 NDV를 접종한 IBV M-41주와 분리주 C₇은 NDV접종후 72시간까지도 NDV의 증식을 방해하고 있었으며, IBV와 NDV의 접종간격이 18시간인 분리주 B₈은 NDV접종후 72시간부터 NDV의 증식 방해 현상이 소실되는 양상을 볼 수 있었다. Raggi와 Pignattelli(1975)은 M-41주와 Connecticut주에 의한 BiNDV의 증식 방해 현상은 NDV접종후 24~54시간에 나타나며 66~72시간후에 소실되는 양상을 볼 수 있었다. IBV와 NDV의 접종 시간 간격은 Raggi와 Pignattelli(1975)은 6시간을, Hidalgo와 Raggi(1976)은 Gray주와 Holte주가 발육계란에서 NDV의 증식 방해를 하기 위해선 보다 긴 접종 시간 간격이 필요하다고 하였다. Hidalgo(1985)은 야의 분리주 IBV를 동정하기 위하여 Lasata NDV의 증식 방해 현상을 이용하였으며 발육 계란에서 적응이 안된 IBV이라도 1 EID₅₀의 바이러스만 존재한다면 NDV의 증식을 방해한다고 보고하였다.²⁹ 본 연구에서 IBV와 NDV의 접종 시간 간격이 18시간인 분리주 C₇과 M-41주는 분리주 B₈보다 접종량이 적었는데도 불구하고 NDV의 증식 방해 시간이 오래 동안 유지된 점을 고려할 때 IBV에 의한 NDV의 증식 방해 현상은 접종 시간 간격과 접종한 IBV의 양이 복합되어 영향을 미치는 것으로 생각된다.

분리된 바이러스를 SPF닭에 인공 감염시켰을 때 바이러스 접종군 모두에서 호흡곤란과 기침 등의 호흡기 증상이 나타났으며 부검결과 기낭염 증상이 보였다.

AGP항체 반응은 접종후 14일에 피크를 나타내었으나 1차접종 후 36일에는 거의 소실된 것으로 보아 오래 지속되지는 않았다. 특히 분리주 C₇을 접종한 군은 1차접종후 21일에 나타나기 시작하여 36일 이전에 소실되는 매우 일시적인 항체반응을 나타냈다. AGP항체는 보통 감염후 8일부터 나타나기 시작하여 10일~17일에 양성율의 피크를 보여 주었으며 6주간 지속된다고 보고된 바 있다.^{30, 31)} HI항체 반응은 AGP와는 달리 접종후 14일에는 대체로 낮은 역가를 보이다가 차차 상승하여 36일에는 높은 역가를 나타내었다. 또한 2차로 불활화 바이러스를 접종한 개체에서는 booster effect에 의해 1차 생바이러스만 접종한 군보다 높은 역가를 나타내었다.

인공 감염계에 대한 조직내 항원 분포는 접종후 4일부터 호흡기관인 후두, 기관, 폐로부터 인정할 수 있었으며, 접종 14일 이후부터는 인정할 수 없었다. IBV감염닭의 조직내 항원 검출에 관하여 Hitchner (1969) 등은 후두, 기관, 폐 등에서 항원을 검출하였다고 보고한 바,^{32, 33)} 본 실험 성적과 거의 일치한다고 사료된다.

結 論

충북 남부 지역 양계장에서 분리한 닭전염성 기관지염(Avian Infectious Bronchitis, IB)에 대한 생물학적 성상 조사와 인공 감염시킨 SPF닭에서의 면역반응 및 병원성, 간접 형광 항체검사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

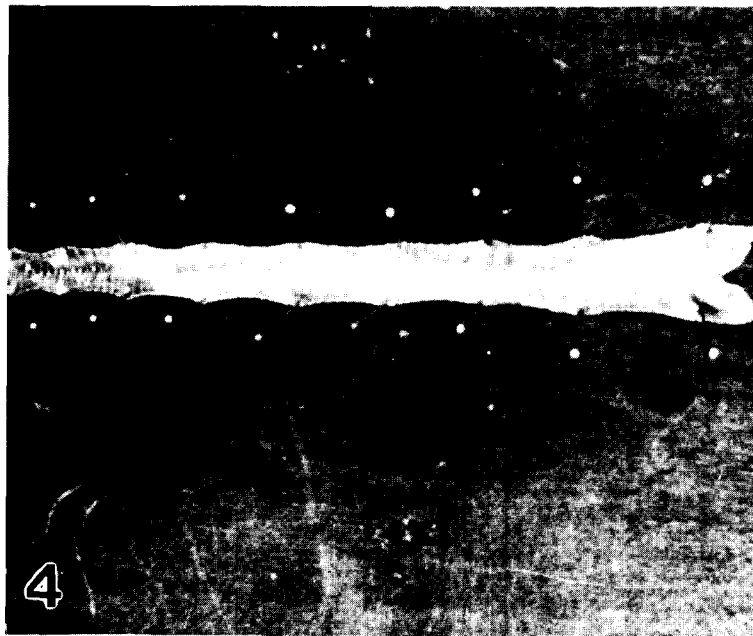
1. 총 15예의 IB추정 병계로부터 2주의 IB양 Virus를 기관 및 폐로부터 각각 분리하였다.
2. 분리한 IBV2주를 발육계란에 접종하여 계대 배양할 때 분리주 2주는 4대 계대 배양후에 IBV의 특징적인 계태아 병변을 보이기 시작하였다.
3. 분리주2주의 IBV와 M-41주 IBV는 발육계란에서 NDV의 증식을 억제하였다.
4. 분리된 IBV2주와 M-41주를 SPF닭에 인공 감염시킨 결과 호흡곤란 및 기침 등의 호흡기증상과 부검 결과 기낭염의 병변이 관찰되었다.
5. 인공 감염 닭에 대한 AGP항체는 접종 14일 후에 출현 빈도가 가장 높았으며 접종 36일 후에 거의 검출할 수 없었다. HI항체 반응에서는 접종후 14일에 모든 접종군에서 검출되었으나 2차 접종군에서는 booster effect현상으로 높은 역가를 보여주었다.
6. 인공 감염된 SPF닭에 대한 형광 항체 검사결과 접종 4일후부터 7일까지 후두, 기관, 폐 등 호흡기장에서 항원을 인정할 수 있었다.

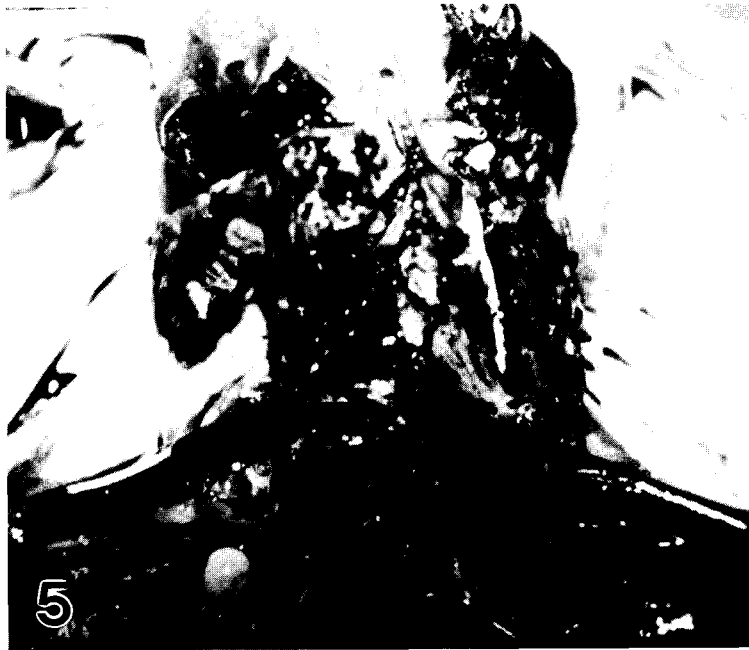
Legends for Photos

Photo 1. Thin-shelled, rough, and misshapen eggs laid by hens during an out break of infectious bronchitis.

Photo 2. Comparison of normal embryos and dwarfed, infected embryos.







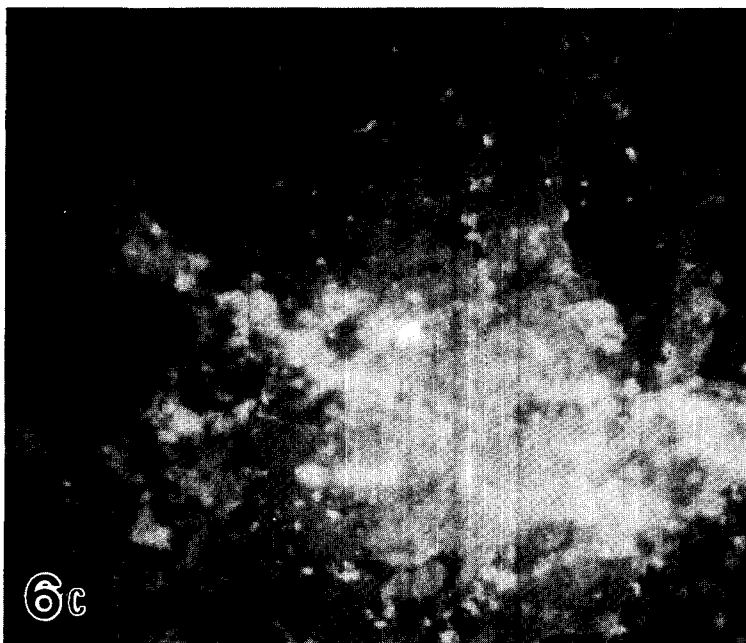
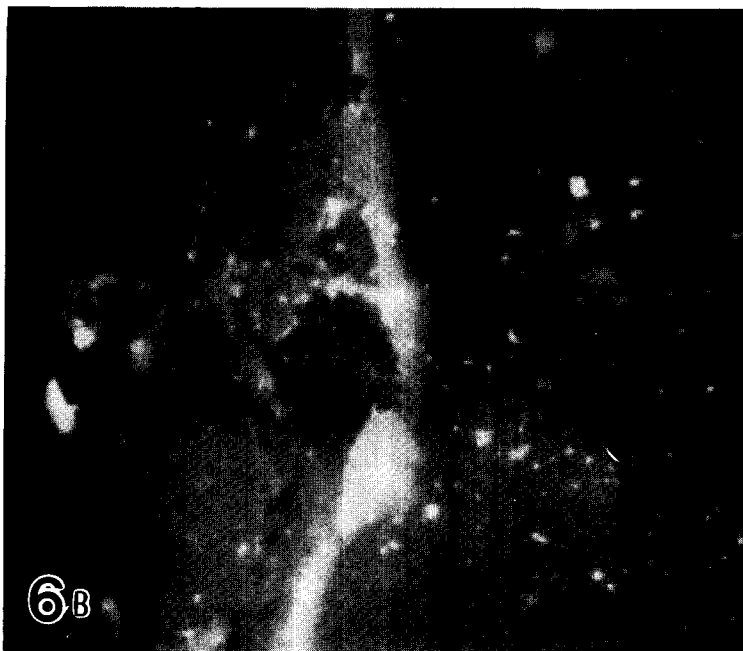


Photo 3. The SPF chicken intratracheally infected with IBV shows clinically respiratory signs on the 3th day post inoculation

Photo 4. The SPF chicken intratracheally infected with IBV shows catarrhal exudate in the trachea.

Photo 5. Artificially infected SPF chicken with IBV appears cloudy and contains a yellow caseous exudate.

Photo 6. Immunofluorescence patterns of the tissues from artificially infected SPF chickens with IBV.

A : The positive antigen is seen in the larynx at the 4th day p.i. X200

B : The positive antigen is seen in the trachea at the 4th day p.i. X200

C : The positive antigen is seen in the lung at the 7th day p.i. X200

參考文獻

1. Hofstad MS. 1984. Avian infectious bronchitis ; In Disease of poultry, 8th ed. Iowa State Univ Press, Ames Iowa. 429~443.
2. Hopkins SR, Yoder J H W. 1984. Increased incidence of airsacculitis in broilers infectious bronchitis vaccine Virus. Avian Dis. 28 : 386~396.
3. Alexander D J. and Gough R E. 1977. Isolation of avian infectious bronchitis virus from experimentally infected Chickens, Res Vet Sci. 23 : 344~347.
4. Schalk AF, Hwan MC. 1931. An apparent by new respiratory disease of baby chicks. J Am Vet Med Assoc. 78 : 413~422.
5. Beach, J.R. and Schalm, O.W. 1936. A filterable virus distinct from that of laryngotracheitis, the cause of a respiratory disease of chickens. Poultry Sci. 15 : 199~206.
6. 김순재, 황길윤, 이창희. 1964. 닭의 전염성 기관지염에 대한 실태조사. 가축위생연구소 사업보고서. 174~176.
7. 유태석. 1968. 닭의 전염성 기관지염 바이러스에 대한 연구. 대한수의학회지. 8 : 24~29.
8. 김순재, 이영옥, 김선중 등. 1980. 특정 전염성 병원체에 대한 국내 종계의 항체 보유상황. 대한수의학회지. 20 : 59~64.
9. 이영옥, 김재홍, 김재학 등. 1986. 전염성 기관지염의 국내 발생, 대한수의학회지. 26 : 277~282.
10. 한태욱, 김선중. 1988. 닭 전염성 기관지염에 관한 연구 서울대수의논문집. 13 : 161~169.
11. Cook JK A, Darbyshire JH and Peters RW : 1976. Growth Kinetics Studies of avian infectious bronchitis virus tracheal Organ Culture, Res Vet Sci 20 : 348~349.
12. Coven BS and Hitohner S B 1975. Characterization of new infectious bronchitis virus isolates. Avian Dis, 19 : 6~11.
13. Butler Ellaway J and Hall T. 1972. Comparative Studies on the infectivity of avian respiratory viruses for eggs, cell cultures and tracheal explants. J Comp. 82 : 327~332.
14. Beach CW 1968. An interference type of serological tests for infectious bronchitis virus using New castle disease Virus, Avian Dis, 12 : 658~665.
15. Card LE and Neshein MC. 1972. Poultry production 11th ed. Cornell Univ. NY.
16. Alexander DJ and Chettle NJ. 1977. Procedures for the hemagglutination inhibition test for avian infectious bronchitis. Avian pathol. 6 : 9~17.
17. Braune MO and Gentry RE 1965. Standardization of the fluorescent antibody technique for the detection of avian respiratory virus. Avian dis. 9 : 535~545.
18. Duff RH, Macdonald JW, McMartin DA and Ross JG. 1971. Infection of day-old Chicken with infectious bronchitis and subsequent anatomical abnormalities. Vet Rec. 88 : 315.
19. Broadfoot DI, Pomeroy BS and Smith Jr WM. 1956. Effect of infectious bronchitis in baby chicks. poultry sci. 35 : 757~762.
20. Crinion RAP, Ball RA and Hofstad MS. 1971.

- Pathogenesis of oviduct lesions in immature chickens following exposure to infectious bronchitis virus at one day old. *Avian Dis.* 15 : 32~48.
21. Fabricant J, and Levine PD. 1962. Experimental production of Complicated chronic respiratory disease infection. *Avian Dis.* 6 : 13~23.
 22. Kleven SH, King DD, and Anderson, D.P. 1972. *Airsacculitis in broilers from Mycoplasma synoviae.* *Avian Dis.* 16 : 915~924.
 23. Hopkins SR and Yoder Jr HW. 1984. Infectious bronchitis strains and vaccines on the incidence of *Mycoplasma synoviae* airsacculitis. *Avian Dis.* 26 : 741~752.
 24. Cunningham CH. 1970. *Avian infectious bronchitis.* *Adv Vet Sci Comp Med Academic Press, Inc, N Y.* 14 : 105~148.
 25. Darbyshire JH, Cook JKA and Peters RW. 1976. Organ culture studies on the efficiency of infection of chicken tissue with avian infectious bronchitis virus. *Br J Exp path.* 57 : 43~454.
 26. Lukert PD. 1980. *Infectious bronchitis, Isolation and identification of avian pathogens.* Creative Printing, NY. 70~74.
 27. Raggi LG and Lee GG. 1963. Infectious bronchitis virus interference with growth of New castle disease virus. *Avian Dis.* 7 : 106~122.
 28. Raggi LG and Pignattelli P. 1975. Identification of infectious bronchitis virus by interference with the B-1 isolant of Newcastle disease virus. *Avian Dis.* 19 : 334~342.
 29. Hidalgo W, Gallardo R, Vivar J and Toro H. 1985. Identification of field isolates of infectious bronchitis virus by interference with the Lasota strain of Newcastle disease virus. *Avian Dis.* 29 : 335~340.
 30. Itter RL. 1962. The diagnosis of infectious bronchitis of chickens by the agar gel precipitation test. *Avian Dis.* 6 : 478~492.
 31. Gough RL and Alexander DJ. 1977. Comparison of serological tests for the measurement of the primary immune response to infectious bronchitis vaccine. *Vet Microbiol.* 2 : 289~301.
 32. Hitchner SB, Winterfield RW and Appleton GS. *Infectious bronchitis Virus types. Incidence in the U S* *Avian Dis.* 10 : 98~102.
 33. Kazuhiro Yagyu, Shuichi Ohta. 1990. Detection of Infectious Bronchitis Virus Antigen from Experimentally Infected Chickens by Indirect Immunofluorescent Assay with Monoclonal Antibody. *Avian Dis.* 34 : 246~252.