

모계의 전염성기관지염, 전염성 F낭병 및 뉴캐슬병 백신투여에 따른 모체이행 항체의 변동

고원석, 김태중*, 이정원, 서이원, 송희종*, 오언평

전라북도 가축위생시험소 익산지소, 전북대학교 생체안전성 연구소*

Changes of maternal antibodies in chicks vaccinated to breeder
against infectious bronchitis, infectious *Bursal* disease, and
Newcastle disease virus

Won-Seok Koh, Tae-Joong Kim*, Jeong-Won Lee, Lee-Won Seo,
Hee-Jong Song*, Un-Pyong Oh

Iksan-branch, Chonbuk Veterinary Laboratory Service, Chonbuk 570-390
Bio-Safety Research Institute, Chonbuk National University*, Chonbuk 561-756

Abstract

Serum samples collected from 30 breeders and their progeny 30 chicks. The antibodies against infectious bronchitis(IB), infectious bursal disease(IBD) and Newcastle disease(ND) viruses were detected by ELISA using commercial ELISA kit. The breeders were vaccinated against IB, IBD and ND viruses according to general vaccination program. Geometric mean titers(GMT) of ELISA were monitored from 1-day old to 17-day old chicks and compared with breeder chickens.

The GMT of ELISA to IB, IBD and ND were declined half level of the breeder antibody titer at 6-, 8- and 7-day old. And, the GMT of ELISA to IB, IBD and ND were declined than that of protective titer at 6-, 1-, and 4-day old. Thereafter, the GMT of ELISA was declined and disappeared according to ages of chicks.

Taken together, this study led to conclusion that time-course of maternal antibody titers of chicks from vaccinated breeders, and this is very important data for vaccination to chicks.

Key words : ELISA, Maternal antibody titers, Virus vaccine

서 론

전염성 기관지염(infectious bronchitis ; IB)은 급성 호흡기질환으로 호흡기외에 신장과 생식기를 침해하여 체중감소, 사료효율 저하, 산란율과 난질의 현저한 저하를 일으키며, 2차적으로 기낭염을 유발하여 경제적 손실을 끼치는 질병이다¹⁾. *Coronavirus*속의 IB virus가 원인체이며, 전파속도가 매우 빠르다. 특히 어린 병아리에 감염시 수란관에 영구적인 손상을 끼쳐 무산계가 되기도 하고, 치사율이 40%에 이르는 경우도 있다^{2,3)}.

전염성 F낭염(infectious Bursal disease ; IBD)은 급성, 전염성이 강한 질병으로 Birnaviridae에 속하는 IBD virus가 원인체이다. 3주령 이전의 어린 닭에 감염시 특이적인 임상증상을 나타내지 않고, 면역기관이 손상되고, 3주령 이후에 감염시 식욕감퇴, 설사, 침울, 탈수 등의 임상증상을 나타내며, 10~20%의 폐사율을 나타낸다^{4,5)}.

뉴캐슬병(Newcastle disease ; ND)은 *Paramyxoviridae*속의 ND virus가 원인체로, 전염성이 강하며, 호흡기계, 소화기계, 신경계 등 범 장기성으로 임상증상을 나타낸다. 종종 90% 이상의 높은 치사율부터 불현성감염에 이르기 까지 동일종에서도 다양한 정도의 임상증상을 나타내며, 닭 이외의 여러 조류에서도 감염되는 넓은 감염숙주 영역을 가지고 있다^{6,7)}.

Table 1. Vaccination history of the breeders

Days old	Vaccination by	Vaccination against	Vaccine type
1	Eyedrop	IB + ND	Live
5	Drinking water	IBD	Live
10	Drinking water	IBD	Live
12~13	Eyedrop	IB + ND	Live
12~13	Subcutaneous	IB + ND + IBD	Inactivated
15	Drinking water	IBD	Live
28	Drinking water	IB + ND	Live
56	Drinking water	ND	Live
60	Drinking water	IB	Live
84	Intramuscular	IB + ND	Oil-emulsion
91	Drinking water	IBD	Live
154	Intramuscular	IB + ND + IBD	Oil-emulsion

이들 질병들은 이미 전국적으로 양계농장에 상재되어 있어 우리나라 양계산업에 막대한 경제적 피해를 주고 있는 실정이다. 따라서, 각 농장에서는 이들 질병에 대하여 농장자체의 백신프로그램을 설정하여 실시하고 있으며, 특히 종계에서의 이들 질병에 대한 면역능 형성 정도는 종계자체에서의 질병예방 뿐만 아니라 후대 병아리의 질병에 대한 방어력 부여에도 매우 중요하다.

본 실험에서는 국내 종계군에서 IB, IBD 및 ND에 대한 항체 보유수준을 검사하고, 또한 그들 후대 병아리에서 일령에 따른 모체이행 항체의 변동을 조사함으로써, 종계군 및 후대 병아리에서의 면역능 형성수준을 파악하여 합리적인 질병예방대책 수립을 위한 기초자료로 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

시험재료 : 전염성기관지염(IB), 전염성 F낭염(IBD) 및 뉴캐슬병(ND)에 대하여 농장의 백신프로그램(Table 1)에 따라 백신을 실시한 25~26주령의 종계군(Cobb종) 30수와 이들 종계군이 낳은 알을 받아 부화시킨 병아리 700수를 구입하여 육성용 케이지에 사육하면서 실험에 사용하였다. 병아리는 병원체에 대한 백신접종을 하지 않았다.

혈 청 : 모계는 25~26주령 30수를 익하정 맥에서, 병아리는 1일령부터 17일령까지 일령에 따라 각각 30수씩 심장에서 채혈하였다. 상온에서 혈액을 응고시킨 다음, 원심분리(2,000 rpm, 10min)하여 혈청을 분리한 후 56°C, 30분간 비동화하고, 사용할 때까지 -20°C에 보관하였다.

혈청학적 검사 : 전염성기관지염(IB), 전염성 F낭염(IBD) 및 뉴캐슬병(ND)에 대한 각 가검혈청의 항체가는 commercial IB, IBD, ND ELISA kit(ProFLOK IB, IBD, ND ELISA kit ; Kirkegaard & Perry Laboratories Inc, Gaithersburg, MD)를 이용하여 kit의 방법에 준하여 검사하였다^{8,9)}. 간기하면, 희석용 plate에 가검 혈청 6μl를 희석용액 300μl에 희석하였다. 그 후, 각각 IB, IBD, ND의 항원이 코팅된 ELISA plate(KPL Laboratory Inc.)의 각 well에 희석 용액 50μl를 첨가하고, 상기에서와 같이 희석한 가검혈청 50μl를 첨가하여 30분간 상온에서 반응시켰다. 그 후, 각 well의 반응액을 제거하고, 세척용액으로 3회 세척한 후, peroxidase

conjugated anti-chicken Ig G (H+L) (1 : 100 dilution) 100μl를 각 well에 첨가하여, 상온에서 30분간 반응시켰다. 다시 3회 세척하고, ABTS-hydrogen peroxidase substrate solution 100μl를 첨가하여 15분간 발색시킨 후, 반응 정지용액 100μl를 첨가하여 발색을 중지시켰다. 발색도는 405nm파장에서 ELISA reader(SpectraMax Pro, Molecular device, Sunnyvale, CA)를 이용하여 측정하였다.

통계처리 : 가검혈청의 항체역가는 각각 commercial IB, IBD, ND ELISA kit(KPL Laboratory Inc., Gaithersburg, MD)의 계산방법에 준하여 geometric mean titers(GMT)를 구하였다.

결 과

ELISA에 의한 혈중항체가 : commercial ELISA kit를 이용한 혈중 항체가 검사결과, IB, IBD, ND에 대한 혈중항체가는 Fig 1, 2, 3에서와 같다.

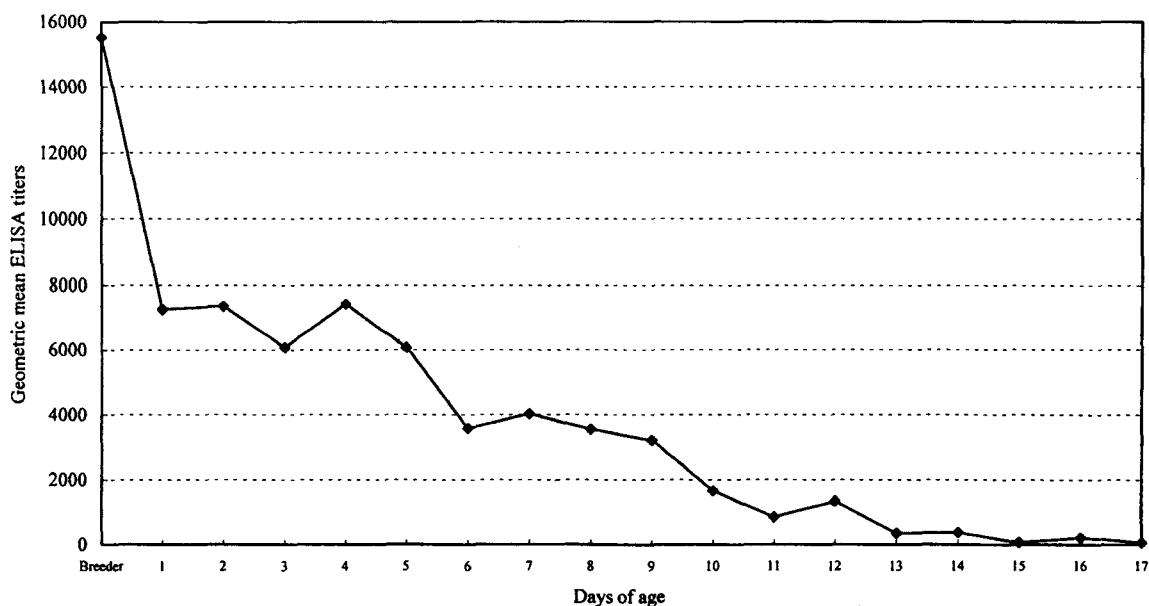


Fig 1. Changes of serum antibody titers against infectious bronchitis in breeders and their progeny chicks.
Each point represents the geometric mean ELISA titers from 30 chickens.
The protective GMT to infectious bronchitis virus is > 5,000

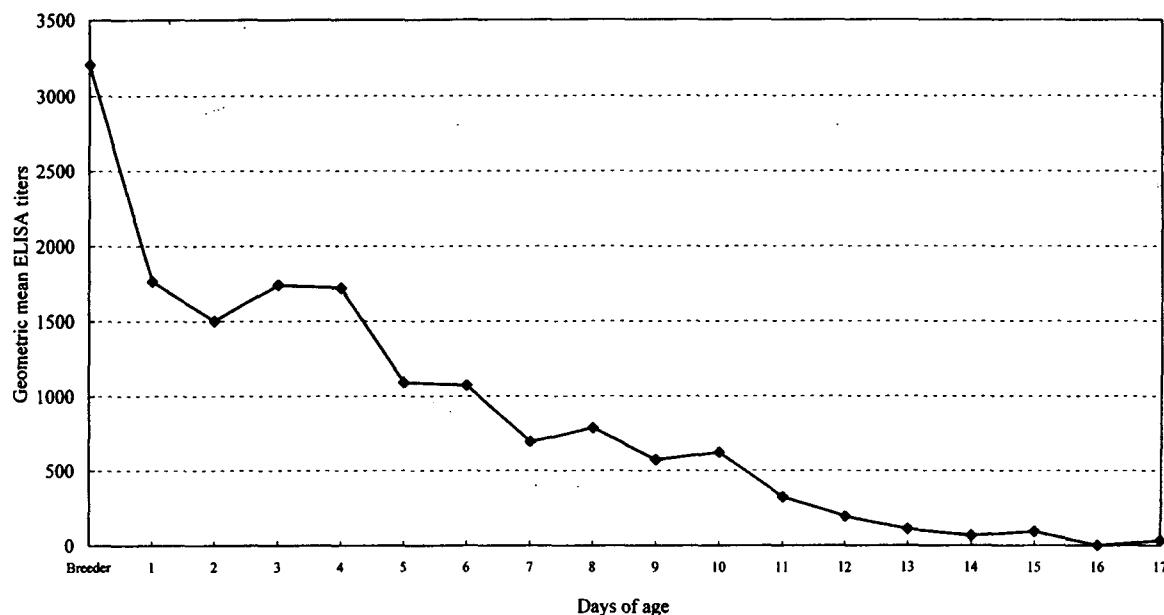


Fig 2. Changes of serum antibody titers against infectious bursal disease in breeders and their progeny chicks.

Each point represents the geometric mean ELISA titers from 30 chickens.

The protective GMT to infectious bronchitis virus is $> 3,000$.

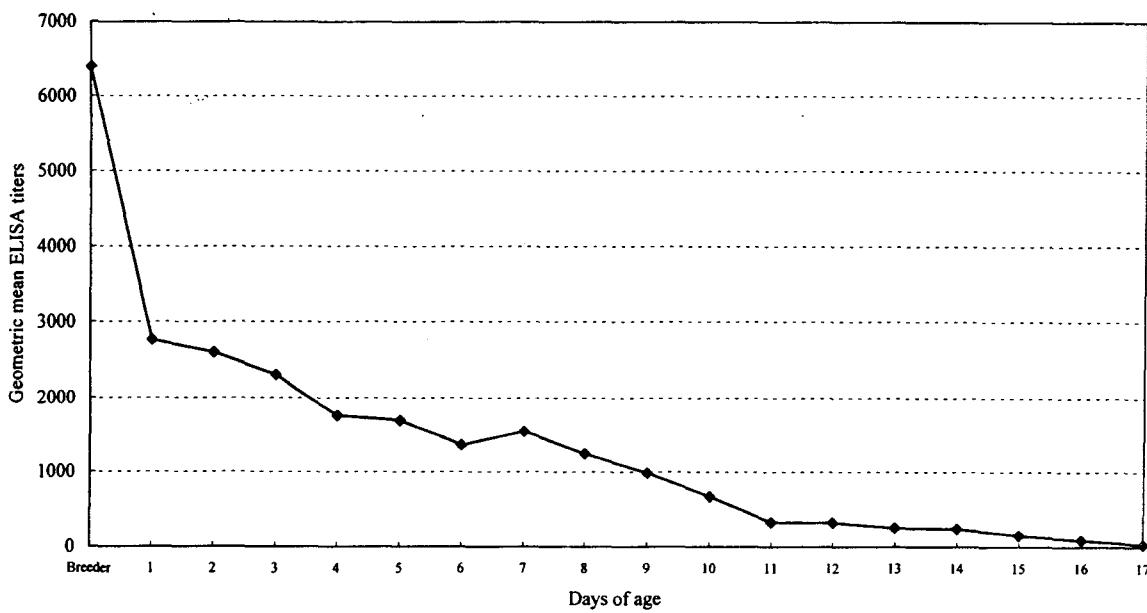


Fig 3. Changes of serum antibody titers against Newcastle disease in breeders and their progeny chicks.

Each point represents the geometric mean ELISA titers from 30 chickens.

The protective GMT to infectious bronchitis virus is $> 1,800$.

즉, 전염성기관염에 대한 GMT 항체가는 모계의 경우 약 15,000으로 방어항체가의 3배 정도이며, 1일령의 경우 약 7,300이며, 5일령의 경우까지(약 6,000) 방어항체가(> 5,000) 이상의 항체가를 유지하였고, 6일령의 경우 모체이행항체수준이 절반으로 저하되었다(약 3,600). 그 후 급격히 저하되어 17일령에서는 약 62로 항체가 거의 소실되었다(Fig 1).

전염성 F낭염에 대한 항체가는 모계의 경우 약 3,200이며, 1일령의 경우 1,700정도로 저하되어 방어항체가(> 3,000)보다 낮았으며, 8일령의 경우 모체이행항체수준이 절반이하로 저하되었다(약 790). 17일령에서는 약 32로 대부분 소실되었다(Fig 2).

뉴캐슬병에 대한 항체가는 모계에서 6,300이었으며, 1일령에서 2,800이었고, 4일령에서 1,750으로 방어항체가(> 1,800)이하로 저하되었고, 7일령에 모체이행항체의 절반수준으로 저하되었다(약 1,500). 17일령에서는 31로 대부분의 모체이행항체가 소실되었다(Fig 3).

고 칠

모계로부터의 후대 병아리에 이행되는 항체는 IgG, IgM 및 IgA의 세가지이다. 부화전 15일경부터 난황내에 존재하는 IgG가 혈류를 통하여 계태아에 흡수되기 시작하여, 부화 후 2~3일에 완전히 흡수되며, 부화계란 albumin내의 IgM과 IgA는 amniotic fluid로 확산되어 계태아가 이를 섭식하여 장관내로 이행된다. 이와같이 이행된 항체들은 병아리 체내에서 분산되며, 장관내로 이행된 IgM과 IgA는 항체로서의 역할을 하지 못하고, IgG는 병아리 체내로 분산되어 혈중 항체로서의 역할을 수행하며, 일령에 따라 항체역가가 저하되어 3주령 이내에 거의 소실된다^{10,11)}.

본 실험에서는 현재 국내 양계농장에서 실시하는 백신프로그램(Table 1)을 준수하여, 전염성기관지염, 전염성 F낭염 및 뉴캐슬병에 대한 백신을 실시한 종계와 이들 종계의 후대 병아리의 혈중항체가를 commercial ELISA kit를 사용하여 측정하고, 모체의 항체이행정도

와 후대 병아리에서 모체 이행항체의 역가변동을 검사하였다.

그 결과 전염성기관지염에 대한 항체가는 5일령에서는 방어항체가(> 5,000) 보다 높은 항체가를 유지하였고, 6일령에는 절반 수준으로 감소되었으며, 13일령 이후에는 거의 소실되는 결과를 보였다. Darbyshire와 Peters는 혈구응집억제시험(hemagglutination-inhibition test ; HI)과 혈청중화시험(serum neutralization test ; SN)으로 모체이행항체를 검사한 결과 5~6일령에 모체이행항체의 수준이 절반으로 저하되었고, 강독 Massachusetts M 41 strain으로 challenge하여도 4주령까지는 방어할 수 있어, HI와 SN으로 검사한 항체역가와 질병에 대한 방어력간의 상관관계가 적다고 보고하였다¹²⁾. 한편, 1주령 병아리에서 ELISA법으로 모체이행항체를 쉽게 검출할 수 있었으나, virus 중화시험법으로는 매우 낮거나 의의가 없는 항체가가 검출되었다는 보고¹³⁾ 및 HI와 ELISA법의 항체가 검사 결과^{14,15)}를 참고로 할 때 ELISA법이 HI나 SN에 의한 항체가 검사보다 더 민감한 항체가 검사방법임을 판단할 수 있다.

전염성 F낭염은 전염성이 강한 면역억제 질병으로 많은 종류의 광범위한 백신접종으로 예방대책을 실시하고 있지만, 균절되지 않고 지속적으로 발병하는 질병이다. 모체이행항체 검사결과, 1일령에서도 방어항체가보다 낮은 항체가를 나타내며, 8일령에서는 모체이행항체가 절반이하로 저하되어 12~13일령에서는 대부분 소실되었다. 이는 혈중에서 모체이행항체가 6.7일에 소실된다는 보고¹⁶⁾와 모체이행항체의 반감기가 유사하지만, 모체이행항체의 반감기가 3~5일이라는 보고 등^{17,18)}과는 차이가 있었다. 한편, oil-emulsion IBD 백신을 실시한 모계의 후대병아리는 4~5주 동안 보호면역이 유지되지만, 생백신을 실시한 모계의 후대병아리는 1~3주 정도만 보호면역이 유지된다는 보고 등^{19,20)}과 본 실험계군에서와 같은 백신프로그램에 따라 백신접종을 실시한 모계 및 그들의 후대병아리의 보호면역 형성 수준을 비교 검토한 결과 IBD감염을 감소 및 균절을 위해

서는 보다 효과적인 백신 개발 및 백신프로그램 조정 등의 예방대책수립이 필요하다고 사료된다.

뉴캣슬병은 범장기성으로 발생하는 급성 전염병으로 높은 폐사율, 산란율 저하, 산란율 감소, 백신접종 및 방역 등의 비용으로 양계산업에 심각한 손실을 끼치고 있어, 1종 법정 전염병으로 정하여 국가적인 차원에서 방역 대책을 수립하여 왔으나, 현재까지 탁월한 방안이 정립되지 않고 있다. 또한, 백신프로그램을 준수하여 실시한 경우에도 발생이 근절되지 않고 있으며, 성계군에서는 뚜렷한 임상증상이나 부검소견을 보이지 않고, 육성계군에서는 호흡기 증상과 더불어 장기간의 다양한 폐사와 신경 증상을 나타낸다^{6,20)}.

모체 및 후대 병아리의 혈중 항체가를 검사한 결과 4일령까지는 방어항체(> 1,800)보다 높은 항체역가를 유지하였으나 그 후 7일령에 모체 이행항체가 반감되었으며, 11일령에는 대부분 소실되었다(Fig 3). 모체에서의 GMT는 6,300 이었으나 1일령 후대병아리의 항체가는 2,800으로 항체의 이행정도가 낮았다. 이는 생백신을 실시한 모계보다 불활화 oil-emulsion 백신을 실시한 모계의 후대 병아리의 모체이행 항체 가가 높다는 보고^{21,22)}와 유사한 결과이나, 모체의 항체가가 후대 병아리로 이행되는 정도가 IB, IBD에 비하여 낮았다. 또한, 후대 병아리의 혈중 항체가 방어역가보다 낮아지는 시기가 빨라 질병에 대한 보호면역 유지가 지속되지 못하므로 보강접종을 반드시 실시하여야 한다.

ELISA법에 의한 결과는 항체 농도에 따라 매우 민감하므로 ELISA와 다른 혈청학적 검사(예, HI, SN 등)와의 직접적인 상관관계를 확립하기 어렵다. 더구나 ELISA법은 질병감염을 검사하는 방법으로는 유용하지만 혈청형 사이에 밀접한 관계가 있는 virus 나 세균에 노출되었을 경우 정확한 감별이 어려운 한계점이 있다. 따라서 가검혈청의 검사를 실시할 때는 일반적인 혈청학적 검사와 ELISA와의 상관관계를 고려하여 실시하여야 할 것이다.

결 론

국내 종계군에서 전염성기관지염, 전염성 F 낭염, 뉴캣슬병에 대한 항체 보유수준을 검사하고, 이들 모계의 후대 병아리로의 항체 이행 수준과 일령에 따른 모체이행항체의 변동을 조사하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 전염성기관지염에 대한 모계의 geometric mean titer(GMT)는 13,000, 후대 병아리 1일령은 7,300, 5일령은 6,000으로 방어항체가(> 5,000) 보다 높았으며 모체이행항체는 6일령에 반감되어 13일령에는 대부분이 소실되었다.

2. 전염성 F낭염에 대한 모계의 GMT는 3,200 이었으며, 후대 병아리 1일령은 1,700으로 방어항체가(> 3,000) 보다 낮았으며, 모체이행항체는 8일령에 반감되어 13일령에는 거의 소실되었다.

3. 뉴캣슬병에 대한 모계의 GMT는 6,300이며, 후대 병아리 1일령은 2,800, 4일령은 1,750으로 방어항체가(> 1,800) 보다 낮았으며, 모체이행항체는 7일령에 반감되어 11일령에는 대부분이 소실되었다.

이상의 결과로 전염성기관지염, 전염성 F낭염, 뉴캣슬병에 대한 모체의 항체 수준과 후대 병아리로의 이행 정도를 확인할 수 있었고, 후대 병아리에서 모체이행항체 수준의 변동을 검사함으로써 후대병아리에서의 백신 시기 결정에 기초자료로 제시한다.

참고문헌

1. Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, et al. 1991. *Diseases of Poultry*. 9 ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa : 471~484.
2. 최원필, 송희종, 김순재. 1997. 수의전염병 학. 경북대학교 출판부, 대구 : 429~432.
3. Charlton BR, Bermudez AJ, Boulianne M, et al. 1996. *Avian Disease Manual*. 4 ed. American Association of Avian Pathologist, Kennett Square, Pennsylvania : 49~52.
4. Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, et al. 1991. *Diseases of Poultry*. 9 ed. Iowa State

- University Press, Ames, Iowa : 648~663.
5. Timoney JF, Gillepsie JH, Scott FW, et al. 1988a. *Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals*. 8 ed. Cornell University Press, Itacha, New York : 725~727.
 6. Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, et al. 1991. *Diseases of Poultry*. 9 ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa : 496~519.
 7. Timoney JF, Gillepsie JH, Scott FW, et al. 1988b. *Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals*. 8 ed. Cornell University Press, Itacha, New York : 813~818.
 8. Keck LD, Skeeles JK, McNew RW. 1993. Antibody detection in matched chicken sera and egg-yolk samples by commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits for Newcastle disease virus, infectious bronchitis virus, infectious bursal disease virus, and avian reovirus. *Avian Dis* 37 : 825~828.
 9. Brown J, Resurreccion RS, Dickson TG. 1990. The relationship between the hemagglutination-inhibition test and the enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibody to Newcastle disease. *Avian Dis* 34 : 585~587.
 10. Tizard IR. 1996. *Veterinary Immunology : An Introduction*. WB Saunders Co, Philadelphia, Pennsylvania : 249~250.
 11. Ainsworth AJ, Brown JE. 1991. Detection of in ovo derived idiotype antibodies. I. A model for maternal-neonatal idiotype network studies. *J Immunol* 147 : 910~914.
 12. Darbyshire JH, Peters RW. 1985. Humoral antibody response and assessment of protection following primary vaccination of chicks with maternally derived antibody against avian infectious bronchitis virus. *Res Vet Sci* 38 : 14~21.
 13. Garcia Z, Bankowski RA. 1981. Comparison of a tissue-culture virus-neutralization test and the enzyme-linked immunosorbent assay for measurement of antibodies to infectious bronchitis. *Avian Dis* 25 : 121~130.
 14. Marquardt WW, Snyder DB, Schlotthober BA. 1981. Detection and quantification of antibodies to infectious bronchitis virus by enzyme-linked immunosorbent assay. *Avian Dis* 25 : 713~722.
 15. Thayer SG, Villegas P, Fletcher OJ. 1987. Comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assays and conventional methods for avian serology. *Avian Dis* 31 : 120~124.
 16. Fahey KJ, Crooks JK, Fraser RA. 1987. Assessment by ELISA of passively acquired protection against infectious bursal disease virus in chickens. *Aust Vet J* 64 : 203~207.
 17. Skeeles JK, Lukert PD, Fletcher OJ, et al. 1979. Immunization studies with a cell culture-adapted infectious bursal disease virus. *Avian Dis* 23 : 456~465.
 18. Baxendale W, Luticken D. 1981. The results of field trials with an inactivated Guemboro vaccine. *Dev Biol Stand* 51 : 211~219.
 19. Lucio B, Hitchner SB. 1979. Infectious bursal disease emulsified vaccine : Effect upon neutralizing antibody levels in the dam and subsequent protection of the progeny. *Avian Dis* 23 : 466~478.
 20. 김순재, 강문일, 권혁무 등. 1997. 조류질병학. 선진문화사, 서울. 19~25.
 21. Eidson CS, Thayer SG, Villegas P, et al. 1982. Further studies with an inactivated oil emulsion Newcastle disease vaccine in broiler breeders. *Poul Sci* 61 : 1309~1313.
 22. Eidson CS, Villegas P, Kleven SH, et al. 1980. Field trials with an oil emulsion Newcastle disease vaccine in broiler breeders. *Poul Sci* 59 : 702~707.