

## 육계에서 전염성기관지염, 전염성 F 낭병, 뉴캐슬병 백신투여에 따른 혈중항체가 의 변동

고원석, 백귀정, 이정원, 서이원, 김태중\*, 송희중\*, 오언평

전라북도 축산진흥연구소 익산지소, 전북대학교 생체안전성연구소\*

## Changes of maternal antibodies in broilers vaccinated with infectious bronchitis, infectious bursal disease and Newcastle disease viruses detected by ELISA

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

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

### Abstract

Serum samples were collected from 100 breeders and their progeny 600 broilers. The breeders and broilers were vaccinated against infectious bronchitis(IB), infectious bursal disease(IBD) and Newcastle disease(ND) viruses according to general vaccination program. The antibodies in serum samples against IB, IBD and ND viruses were detected by ELISA using commercial ELISA kit. Geometric mean titer(GMT) of ELISA was monitored from 1-day-old to 35-day-old broilers and compared to that of breeder chickens.

The GMT of ELISA to IB, IBD and ND was declined half level of the day old broiler's antibody titers at about 4, 9 and 4 days of age. The GMT of ELISA to IB, IBD and ND was declined than that of protective antibody titer at about 12, 11, and 15 days of age. Thereafter, the GMT of ELISA to IB, ND were declined and disappeared according to age of broilers. The GMT of ELISA to IBD was declined according to age of broilers, but at 25 days of age increased and 31 days of age increased than that of protective antibody titer.

Taken together, these studies led to conclusion that time-course of antibody titers of broilers from vaccinated breeders and that of progeny broilers which vaccinated according to vaccine program. Those are very important data to design vaccine program to breeders and broilers.

Key words : Broiler, ELISA, Antibody titers, IB, IBD and ND vaccine.

## 서 론

닭의 전염성기관지염(infectious bronchitis ; IB), 전염성F낭병(infectious bursal disease ; IBD), 뉴캐슬병(Newcastle disease ; ND)은 국내에서 발생보고된 이래 다양한 백신프로그램을 적용하고 있음에도 불구하고 지속적으로 발병되고 있어<sup>1-3)</sup>, 양계산업에 커다란 경제적 손실을 끼치고 있을 뿐만 아니라 질병예방을 위한 방역 대책에도 혼선이 초래되고 있다.

최근 유전자 재조합 백신<sup>4-11)</sup>, DNA백신<sup>12)</sup> 등의 유전공학기법을 적용한 효과적인 백신개발에 대한 연구로 유효한 백신이 실험적으로 적용되고 있으나, 본 질병이 빈번히 발생하는 양계농장에서는 쉽게 근절되지 않고 상재하고 있어 질병근절에 어려움이 많다.

양계 시설의 현대화로 사양관리가 향상되고, 백신프로그램에 따른 철저한 예방접종이 실시되고 있지만, 이들 질병발생 억제대책은 백신접종보다 차단방역이 우선적으로 이루어져야 할 것으로 지적되고 있다. 특히, 뉴캐슬병은 국가적으로 막대한 예산을 투자하여 방역대책까지 수립하면서 2002년까지 질병발생을 근절하고자하는 1종 법정 전염병으로, 질병관리 뿐만 아니라 양계산물의 수출에도 걸림돌이 되고 있다.

선진국에서는 백신 투여에 의한 질병예방에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있고, 국내에서는 일부 대단위 농장에서 이들 질병에 대한 자체 백신프로그램을 설정하여 실시하고 있으나, 백신 접종 효과에 대한 정확한 검사 및 비교·평가가 미흡하며, 현재 질병발생 상황을 근거로 미발생 질병 또는 폐사율이 낮은 질병에 대해서는 백신 실시를 기피하는 경향으로, 불

현성 감염 및 질병의 상재화를 유도할 가능성도 배제할 수 없는 실정이다.

본 실험에서는 모계 및 후대에서 IB, IBD 및 ND에 대한 백신을 실시하고, 일령에 따른 혈중항체가 변동을 검사함으로써, 모계군 및 후대에서 백신 접종에 따른 면역능 형성수준을 파악하여 합리적인 백신접종 프로그램을 적용하여 질병예방을 위한 기초자료로 제시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 공시재료

전염성기관지염(IB), 전염성F낭병(IBD) 및 뉴캐슬병(ND)에 대하여 농장의 백신프로그램(Table 1)에 따라 백신을 실시하여 농가에서 사육하고 있는 30주령의 종계군(Cobb종) 100수와 IB, IBD, ND에 대해 백신을 실시한(Table 2) 후대 육계 600수의 혈청을 사용하였다.

### 혈 청

모계는 30주령 100수를 익하정맥에서, 후대 육계는 1일령부터 35일령까지 3~4일 간격으로 각각 50수씩 심장에서 채혈하였다. 실온에서 혈액을 응고시킨 다음, 원심분리(2,000rpm, 10 min)하여 혈청을 분리한 후 56℃, 30분간 비동화시킨 다음, 사용할 때까지 -20℃에 보관하였다.

### 혈청학적 검사

IB, IBD 및 ND에 대한 각 가검혈청의 항체가 commercial IB, IBD, ND ELISA kit(Pro-FLOK IB, IBD, ND ELISA kit ; Kirkegaard

Table 1. Vaccination history of the breeders

Day(s) old	Vaccination by	Vaccination against	Vaccine type
1	Coarse spray	IB + ND	Live
10	Drinking water	IBD	Live
12~13	Subcutaneous	IB + IBD + ND	Oil-emulsion
17~18	Drinking water	IBD	Live
24~25	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
115	Drinking water	IB + ND	Live
130	Intramuscular	IB + IBD + ND	Oil-emulsion

Table 2. Vaccination history of the progeny broilers

Day(s) old	Vaccination by	Vaccination against	Vaccine type
1	Coarse spray	IB + ND	Live
5	Drinking water	IBD	Live
10	Drinking water	ND	Live
15	Drinking water	IBD	Live
20	Drinking water	ND	Live

& Perry Laboratories Inc., Gaithersburg, MD)를 이용하여 kit의 방법에 준하여 검사하였다. 요약하면, 희석용 plate의 각 well에 가검혈청 6mℓ를 넣고 희석용액 300mℓ로 희석하였다. 그 후, 각각 IB, IBD, ND의 항원이 코팅된 ELISA plate(KPL Laboratory Inc.)의 각 well에 희석용액 50mℓ를 첨가하고, 전술한 바와 같이 희석한 가검혈청 50mℓ를 첨가하여 30분간 상온에서 반응시켰다. 그 후, 각 well의 반응액을 제거하고, 세척용액으로 3회 세척한 후, peroxidase conjugated anti-chicken IgG(H+L) (1 : 100 dilution) 100mℓ를 각 well에 첨가하여, 상온에서 30분간 반응시켰다. 세척용액으로 3회 세척하고, ABTS-hydrogen peroxidase substrate solution 100mℓ를 첨가하여 15분간 발색시킨 후, 반응정지액 100mℓ를 첨가하여 반응을 중지시켰다. 발색정도는 405nm 파장에서

ELISA reader(SpectraMax Pro, Molecular device, Sunnyvale, CA)를 이용하여 측정하였다.

#### 통계처리

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

## 결 과

#### IB에 대한 항체가

Commercial ELISA kit를 이용한 혈중항체가 검사결과 전염성기관지염에 대한 GMT는 모체가 약 47,800으로 높은 항체가를 보유하고 있

있으며, 1일령은 약 57,620으로 모계보다 높은 항체가를 보유하고 있었다. 그 후 11일령까지 (약 5,700) 방어항체가(>5,000) 이상의 항체가를 유지하였고, 19일령(약 500)에는 대부분 항체가 소실되었다. 그 후 항체가는 계속 저하되어 32일령에서는 60, 출하일령인 35일령에는 약 170으로 항체가가 약간 상승되었다(Fig 1).

#### IBD에 대한 항체가

전염성F낭병에 대한 항체가는 모계의 경우 약 6,940이며, 1일령은 약 8,160으로 10일령까지 방어항체가(>3,000) 수준을 유지하였고, 그 후 일령에 따라 저하되었다. 19일령에서는 약 890으로 대부분 소실되었다가 25일령부터 증가되기 시작하여 30일령에는 방어항체가 이상으로 증가되었으며, 35일령에 5,870으로 높은 항체가를 나타냈다(Fig 2).

#### ND에 대한 항체가

뉴캐슬병에 대한 항체가는 모계에서 약 30,

200이었으며, 1일령에서 16,270으로 절반정도로 감소하였고, 14일령에서 1,870으로 방어항체가 (>1,800)이상을 유지하였다. 그 후 19일령부터 급격히 감소되어 32일령에는 90으로 거의 소실되었고, 35일령에는 440으로 약간 상승하는 추세를 보였다(Fig 3).

### 고 찰

현재 국내 양계농장에서 실시하는 백신프로그램(Table 1, 2)에 준하여, 전염성기관지염, 전염성 F낭병 및 뉴캐슬병에 대한 백신을 실시한 종계와 후대육계의 혈중항체가의 변동을 commercial ELISA kit를 이용하여 검사하였다.

전염성기관지염은 1986년 국내 최초 발생보고 이후 지속적으로 발생되고 있으며, 현재, 약 13여종의 혈청형을 가지고 있고 항원의 변이가 빈번하여 예방대책의 수립이 용이하지 않은 질병으로<sup>13)</sup>, 일부 농가에서는 백신의 예방효과를 기대하지 않아 백신실시를 기피하기도 한다. 본 실험결과 전염성기관지염에 대한 항체가는

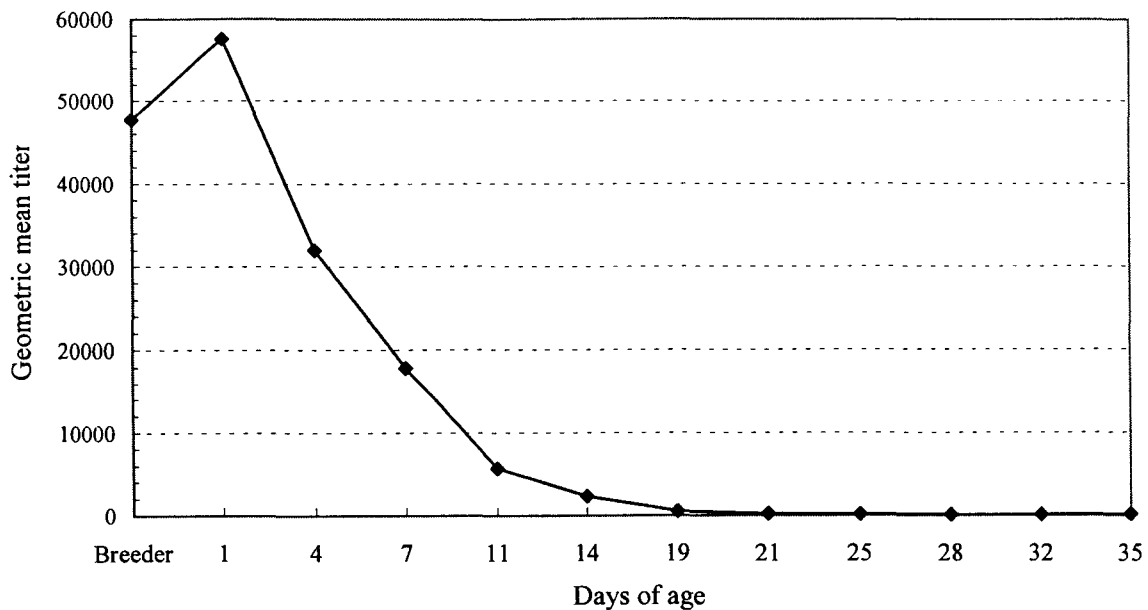


Fig 1. Changes of serum antibody titers against infectious bronchitis in breeder and their progeny broilers.

Each point represents the geometric mean ELISA titers from 50 broilers.  
The protective GMT to infectious bronchitis virus is above 5,000.

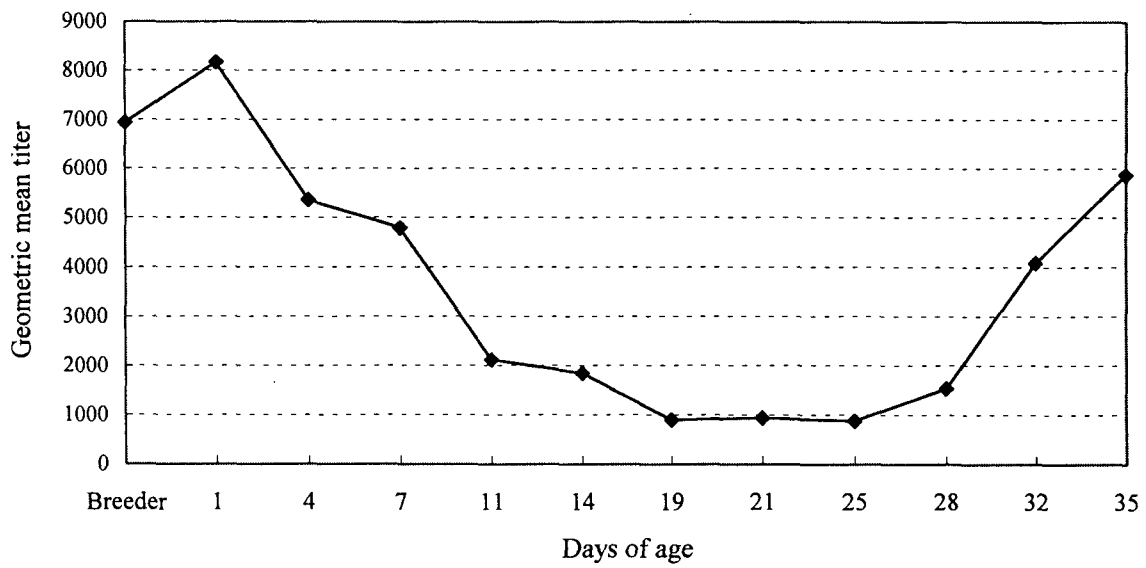


Fig 2. Changes of serum antibody titers against infectious bursal disease in breeder and their progeny broilers.  
 Each point represents the geometric mean ELISA titers from 50 broilers.  
 The protective GMT to infectious bronchitis virus is above 3,000.

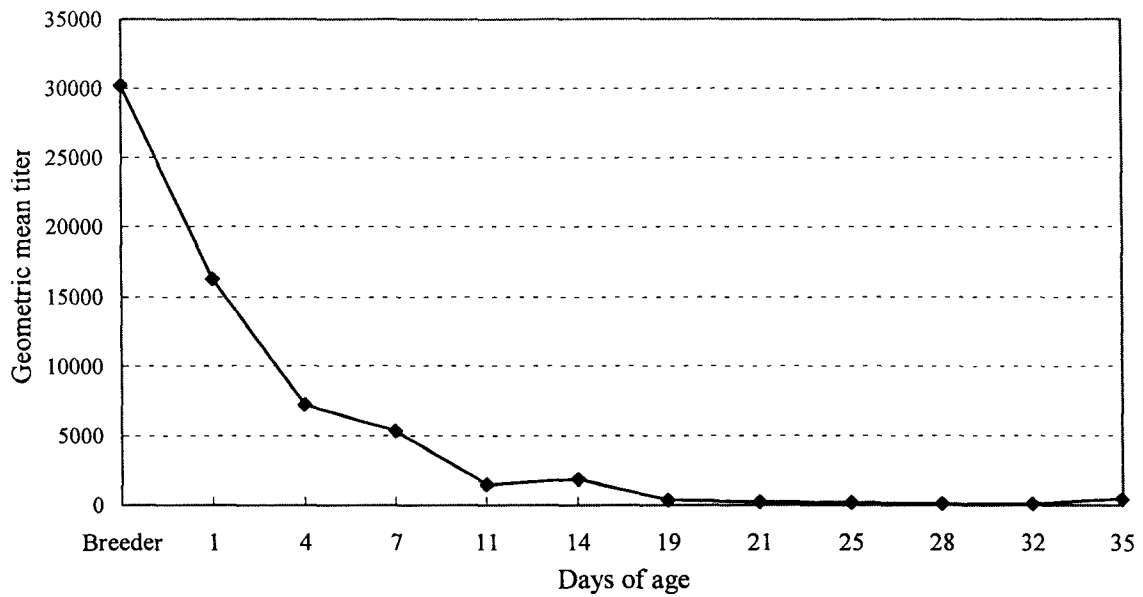


Fig 3. Changes of serum antibody titers against Newcastle disease in breeder and their progeny broilers.  
 Each point represents the geometric mean ELISA titers from 50 broilers.  
 The protective GMT to infectious bronchitis virus is above 1,800.

1일령에 생독백신 후 11일령(5,700)까지 방어 항체가 (>5,000) 보다 높은 항체가를 유지하였고, 14일령(2,300)에는 절반 수준으로 감소되었으며, 19일령 이후에는 거의 소실되는 결과를 보였다(Fig 1). 이 결과는 혈구응집억제시험과 혈청중화시험법으로 모체이행항체를 검사한 결과 5~6일령에 모체이행항체의 수준이 절반으로 저하된다는 Darbyshire와 Peters의 보고<sup>14)</sup>, 모계에 백신투여시 모체이행항체가 5일령까지 방어항체가수준을 유지하였고, 13일령에는 거의 소실된다는 고 등<sup>15)</sup>의 보고에 비하여, 후대 병아리에 직접 백신접종을 실시하였을 경우, 방어항체가가 5~16일 정도 더 유지되었다. 비록, oil-emulsion vaccine이 아닌 생독백신 1회 투여에 의한 결과이지만, booster로 oilemulsion이나 inactivated vaccine을 실시할 경우 보다 지속적인 방어항체가의 유지가 이루어질 것이라 추측할 수 있다.

전염성 F낭병은 강한 전염성의 면역능 억제를 일으키는 대표적인 질병으로<sup>16)</sup>, 다양한 백신접종으로 예방대책을 세우고 있지만, 현재까지도 근절되지 않고 지속적으로 발병하고 있다. IBD virus는 초생추나 중추에서 주로 Fabricius낭을 파괴시켜 다른 질병에 대한 감수성을 증가시키며, 식욕감퇴, 설사, 침울, 탈수 등의 임상증상을 나타내며, 폐사율이 10~20%에 달한다<sup>17)</sup>. 본 실험결과, 10일령까지 방어항체가(>3,000)를 유지하였는데, 이러한 결과는 모체이행항체의 반감기를 6~7일<sup>18)</sup> 또는 3~5일이라고 한 보고<sup>19)</sup>와 부화 1일령에서도 방어항체가 이하의 혈중항체 수준을 보인다는 보고<sup>15)</sup> 등과 비교 해볼 때, 혈중 항체수준이 생백신의 투여로 증가됨을 확인할 수 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<sup>21)</sup>과 본 실험과 같은 백신 프로그램을 실시한 모계 및 그들의 후대병아리의 혈중항체가 수준을 비교한 결과, IBD 감소 및 근절을 위해서는 보다 효과적인 백신개발 및 백신프로그램 조정 등의 예방대책수립이 필요하다고 사료된다. 5일령에 음수백신을 실

시한 후에도 혈중항체가 계속 감소하여, 15일령에 2차 음수백신을 실시한 경우에도, 혈중항체가 지속적으로 저하되어, 19일령에는 상당히 낮은 항체가를 나타냈다. 그 후 25일령부터 서서히 증가하기 시작하여 31일령부터는 방어항체가 수준 이상으로 상승하였다(Fig 2). 이는 본 실험군의 평균체중과 Bursa지수를 산출하여 혈중항체가, 백신시기 등과 비교·검토한 결과 임상증상을 거의 보이지 않는 수준의 IBD virus감염이 있었을 것으로 추측된다.

뉴캐슬병은 호흡기계, 소화기계, 신경계 등 범장기성으로 임상증상을 보이는 강한 전염성 질병으로<sup>22,23)</sup> 정부차원에서 질병발생을 근절하고자 하지만, 현재까지 탁월한 예방백신 또는 질병예방 프로그램이 정립되지 않아 질병근절 및 양계산물의 수출을 통한 양계산업의 활성을 저하시키고 있다. 백신접종을 실시하지 않은 경우 90% 이상의 높은 치사율을 나타내며 임상증상을 보이지 않는 불현성감염 등 동일 종에서도 다양한 정도의 임상증상을 나타내며, 닭 이외의 꿩, 메추리, 비둘기, 호로조 등 여러 조류에서도 감염되는 넓은 감염숙주 영역을 가지고 있다<sup>23,24)</sup>. 또한, 백신프로그램을 준수하여 실시한 경우에도 발생이 근절되지 않고 있으며, 성계군에서는 뚜렷한 임상증상이나 부검 소견을 보이지 않고, 육성계군에서는 호흡기 증상과 더불어 장기간의 다양한 폐사와 신경증상을 나타낸다<sup>22~24)</sup>.

모체 및 후대 육계의 혈중항체가를 검사한 결과 14일령까지는 방어항체가(>1,800) 보다 높은 항체가를 유지하였으나, 그 후 19일령에 모체이행항체가 상당히 감소되었으며, 21일령에는 대부분이 소실되었다(Fig 3). 모체에서의 GMT는 30,230이었으나 1일령에서는 16,270으로 항체의 이행정도가 비교적 낮았다. ELISA 법은 계군단위의 질병감염을 검사하는 방법으로는 유용하지만, 실제적으로 일반시험소나 농장에서 대단위로 적용되지 못하고 있으며, 혈청형 사이에 밀접한 관계가 있는 virus 또는 세균에 노출되었을 경우 정확한 감별이 어려운 한계점이 있다. 본 실험에서는 혈청 중의 Ig G class의 항체만을 검사한 결과로, IB, ND 등

호흡기계, 소화기계 등 점막표면의 Ig A class가 질병발생에 대해 주요한 방어작용을 하는 질병의 경우에는 이들 점막표면의 Ig A class를 검사하는 방법을 적용하여야 할 것으로 사료된다.

따라서, 가검혈청의 항체가 검사를 실시할 경우, 질병에 따라 집중적으로 검사하여야 할 Ig의 종류를 확인하여 ELISA를 실시하여야 하며, ELISA와 일반 혈청학적 검사를 병행하여, 이들 검사결과와 상관관계를 상호 비교·평가한 후, 가장 정확한 판단을 하여야 할 것이다.

## 결 론

모계 및 후대 육계에서 전염성기관지염, 전염성 F낭병, 뉴캐슬병에 대한 혈중항체가 수준의 일련에 따른 변동을 조사하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 전염성기관지염에 대한 모계의 geometric mean titer(GMT)는 47,800이었고, 후대 병아리 1일령은 57,620, 11일령은 5,700으로 방어항체가 (>5,000) 보다 높았으며, 4일령에 반감되어 19일령에는 대부분이 소실되었다.

2. 전염성F낭병에 대한 모계의 GMT는 6,940이었고, 후대 병아리 1일령은 8,160으로, 10일령까지 방어항체가(>3,000) 수준을 유지하였으며, 그 후 19일령에는 거의 소실되었다가 25일령부터 다시 증가하기 시작하여, 30일령에는 방어항체가 수준 이상을 유지하였다.

3. 뉴캐슬병에 대한 모계의 GMT는 30,200이었고, 후대 병아리 1일령은 16,270으로 반감되었고, 14일령은 1,870으로 방어항체가(>1,800) 수준을 유지하였다. 그 후, 19일령에 급격히 감소하여 대부분이 소실되었다.

이상의 결과로 전염성기관지염, 전염성F낭병, 뉴캐슬병에 대한 모체의 항체수준과 후대 병아리로의 이행 정도 및 후대 육계의 백신 접종 후 혈중항체가의 변동을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 모계와 후대 육계의 혈중 항체수준의 변동을 검사함으로써 모계 및 후대 육계의 백신프로그램의 정립에 기초자료로 제시한다.

## 참고문헌

1. Kim KS. 1992. Current situation of poultry diseases in Korea. *Korean J Poult Sci* 19 : 137~150.
2. 성환우, 김재홍, 송창선 등. 1993. 주요 닭 질병에 대한 국내 종계군의 항체보유 현황. *농업논문집* 35 : 604~611.
3. 모인필. 1996. 1996년도 가금질병 검색결과 분석. *양계연구* 1 : 66~69.
4. Sakaguchi M, Nakamura H, Sonoda K, et al. 1998. Protection of chickens with or without maternal antibodies against both Marek's and Newcastle diseases by one-time vaccination with recombinant vaccine of Marek's disease virus type 1. *Vaccine* 16 : 472~479.
5. Heckert RA, Riva J, Cook S, et al. 1996. Onset of protective immunity in chicks after vaccination with a recombinant herpesvirus of turkeys vaccine expressing Newcastle disease virus fusion and hemagglutinin-neuraminidase antigens. *Avian Dis* 40 : 770~777.
6. Reddy SK, Sharma JM, Ahmad J, et al. 1996. Protective efficacy of a recombinant herpesvirus of turkeys as an in ovo vaccine against Newcastle and Marek's diseases in specific-pathogen-free chickens. *Vaccine* 14 : 469~477.
7. Song CS, Lee YJ, Lee CW, et al. 1998. Induction of protective immunity in chickens vaccinated with infectious bronchitis virus S1 glycoprotein expressed by a recombinant baculovirus. *J Gen Virol* 79 : 719~723.
8. Boots AM, Benaissa-Trouw BJ, et al. 1992. Induction of anti-viral immune responses by immunization with recombinant-DNA encoded avian coronavirus nucleocapsid protein. *Vaccine* 10 : 119~124.
9. Sheppard M, Werner W, Tsatas E, et al.

1998. Fowl adenovirus recombinant expressing VP2 of infectious bursal disease virus induces protective immunity against bursal disease. *Arch Virol* 143 : 915~930.
10. Darteil R, Bublot M, Laplace E, et al. 1995. Herpesvirus of turkey recombinant viruses expressing infectious bursal disease virus VP2 immunogen induce protection against an IBDV virulent challenge in chickens. *Virology* 211 : 481~490.
  11. Pitcovski J, Di Castro D, Shaaltiel Y, et al. 1996. Insect cell-derived VP2 of infectious bursal disease virus confers protection against the disease in chickens. *Avian Dis* 40 : 753~761.
  12. Sakaguchi M, Nakamura H, Sonoda K, et al. 1996. Protection of chickens from Newcastle disease by vaccination with a linear plasmid DNA expressing the F protein of Newcastle disease virus. *Vaccine* 14 : 747~752.
  13. Karaca K, Naqi S, Gelb J. 1992. Production and characterization of monoclonal antibodies to three infectious bronchitis virus serotypes. *Avian Dis* 36 : 903~915.
  14. 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.
  15. 고원석, 김태중, 이정원, 등. 1998. 모계의 전염성기관지염, 전염성F낭병 및 뉴캐슬병 백신투여에 따른 모체이행항체의 변동. *한국가축위생학회지* 21 : 133~139.
  16. Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, et al. 1991. *Diseases of Poultry*. 9 ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa : 648~663.
  17. Timoney JF, Gillepsie JH, Scott FW, et al. 1988. *Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals*. 8 ed. Cornell University Press, Ithaca, New York : 725~727.
  18. 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.
  19. 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.
  20. Baxendale W, Lutticken D. 1981. The results of field trials with an inactivated Gumboro vaccine. *Dev Biol Stand* 51 : 211~219.
  21. 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.
  22. 김순재, 강문일, 권혁무 등. 1997. 조류질병학. 선진문화사, 서울. 19~25.
  23. Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, et al. 1991. *Diseases of Poultry*. 9 ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa : 496~519.
  24. Timoney JF, Gillepsie JH, Scott FW, et al. 1988. *Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals*. 8 ed. Cornell University Press, Ithaca, New York : 813~818.