

넙치에 대한 β -용혈성 연쇄구균 불활화백신의 안정성과 효능

조미영[†] · 이덕찬 · 이주석^{*} · 도정완 · 김명석 · 최미영^{**}

김이청^{***} · 강보규^{****} · 윤용득^{****} · 김진우

국립수산과학원 병리연구팀, ^{*}내수면양식연구소, ^{**}부경대학교 수산생명의학과,

^{***}어류연구센터, ^{****}녹십자수의약품주식회사

Stability and efficacy of formalin-killed *Streptococcus iniae* vaccine for olive flounder, *Paralichthys olivaceus*

Mi Young Cho[†], Deok Chan Lee, Joo Seok Lee^{*}, Jung Wan Do, Myoung Sug Kim,
Mi Young Choi^{**}, Yi Cheong Kim^{***}, Bo Kyou Kang^{****}, Yong Dhuk Yoon^{****} and Jin Woo Kim

Pathology Team, National Fisheries Research and Development Institute, Busan 619-902, Korea

^{*}Inland Aquaculture research Institute, NFRDI, 645-806, Korea

^{**}Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University

^{***}Finfish Research Center, NFRDI, 767-863, Korea

^{****}Green Cross Veterinary Products, Co. Ltd., 446-593, Korea

This study was performed to verify the stability and efficacy of *Streptococcus iniae* formalin killed cells on storage at refrigerator temperature in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. The vaccines preserved for 6, 12 and 15 months showed high stability of potency. The antibody titers and protection efficacy to challenge test were significantly higher in booster immunized groups than prime immunized groups during storage. Especially, above 60% of relative percent survival obtained at low antibody level in prime immunized groups indicates that innate and non-specific immune system might act against the *S. iniae* challenged.

Key words: *Streptococcus iniae*, flounder, *Paralichthys olivaceus*, formalin-killed vaccine, stability, efficacy

양식 산업의 급성장과 더불어 심각한 경제적 손실을 야기하는 질병을 예방하기 위해 다양한 수산용 백신이 개발되어 상업화되고 있으나 우리나라에서는 현재까지 넙치의 에드워드백신을 제외하고는 주요 질병에 대한 백신 개발 및 산업화 실적이 부진한 실정이다.

백신이 상업적으로 허가를 받기 위해서는 엄격한 요건을 충족하여야 하며, 규정된 보존 조건 하에서 안전성 (safety), 효능 (efficacy) 및 안정성 (stability)이 검증되어야 한다 (Stainer and Hart, 1978). 즉, 실험실 단계에서 대상생물에 대한 안

전성 및 면역 효능이 입증된 백신이라 하더라도 상업적 허가를 얻기 위해서는 허가에 필요한 일정 기간 동안의 안정성이 검증되어야 한다.

본 연구는 넙치 연쇄구균증의 주요 병원체중 하나로 알려져 있는 β -hemolytic *Streptococcus iniae* 불활화 백신의 상업화를 위하여 국립수산과학원 병리연구팀에서 녹십자수의약품주식회사에 기술 이전하여 제작한 시험용 백신을 사용하여 실험실 수조에서 넙치를 대상으로 보존 기간별 면역 효능 시험을 실시하여 안정성을 검증하고자 하였다.

[†]Corresponding Author : Mi Young Cho, Tel : 051-720-2483,
Fax : 051-720-2498, E-mail : mycho@nfrda.re.kr

재료 및 방법

1. 시험어

시험어로는 *S. iniae* 균에 대한 항체가 나타
나지 않은 건강한 넙치 (24.0 ~ 44.0 g)를 선정하
여 사용하였다. 또한 개체 크기에 따른 면역 반
응의 차이를 배제하기 위해 보존 기간별로 동일
한 크기의 그룹을 순차하여 실험을 실시하였다.
시험용 수조는 300L FRP 수조를 사용하여 시험
구당 60마리씩 수용하였으며 유수식으로 관리
하였다. 수온은 가온 히터를 사용하여 $20 \pm 1^\circ\text{C}$
로 유지하고, 시판용 EP 사료를 1일 2회 공급하
였다.

2. 시험 백신의 제조 및 접종

국립수산과학원 병리연구팀에서 보관중인 *S.*
iniae JSL0208 균주를 녹십자수의약품주식회사
에 분양하여 생산한 포르말린 불활화백신을 시
험 백신으로 사용하였다. 시험 백신은 장기간 보
존을 위해 0.2% 포르말린을 첨가한 멸균생리식
염수를 사용하여 10 mg/ml 농도로 최종 현탁하
였으며 멸균 유리병에 분주하여 4°C 에 보관하면
서 사용하였다. 백신 접종은 시험 백신을 어체당
0.1 ml씩 복강주사하여 최종 농도가 1 mg/fish가
되도록 하였으며, 2회 접종구는 백신 투여 후 2
주째 동량의 백신을 반복 투여하였다. 대조구는
멸균생리식염수 0.1 ml를 복강 주사하였다.

3. 시험 백신의 보존 기간별 안정성 시험

시험 백신을 4°C 에서 보관하면서 생산 직후, 6
개월 후, 12개월 후, 15개월 후에 상기의 백신 접
종 과정에 따라 면역시킨 후 면역 효능의 변화
를 조사하였다.

가. 응집항체가 조사

백신 접종 후 2, 4, 8 및 12주째에 시험어의 미
부 정맥에서 채혈하여 혈청을 분리하였으며, 응
집항체가는 microtiter법으로 조사하였다. 즉, 넙
치로부터 분리한 혈청을 96 well microplate
(Corning, USA)를 사용하여 멸균생리식염수로
단계 희석한 후 시험 백신을 항원으로 사용하여
동량씩 반응시키고 24시간 후에 응집 형성 유
무를 관찰하였다. 2회 접종구의 경우에는 2회
접종 처리 전, 2회 접종 후 4, 8 및 12주째에 채
혈하여 위와 동일한 방법으로 응집항체를 조
사하였다.

나. 방어 효능 시험

시험 백신의 방어 효과를 조사하기 위하여 백
신 접종 후 3주째 공격 시험을 실시하였다. 공격
시험을 위해 NaCl이 1.5% 첨가된 BHI broth
(Difco, USA)에서 30°C , 48시간 배양한 *S. iniae*
JSL0208 균을 미리 3회 이상 어체 통과시켜 병
원성을 회복시킨 이후 실험에 사용하였다. BHI
broth에서 배양된 균액을 8,000 rpm, 10분간 원
심분리하여 집균하고 0.85% (w/v) 멸균생리식염
수를 이용하여 3회 세척한 후 최종적으로 $1 \times$

Table 1. Fish used for vaccination with formalin killed *Streptococcus iniae* preserved for various periods at 4°C

Months of storage	Fish body weight (g)	Number of fish	Vaccination Route
0	24.0~38.0	180	IP*
6	27.0~44.0	180	IP
12	22.0~37.0	180	IP
15	24.0~38.0	180	IP

* IP, intraperitoneal injection.

10⁸ CFU/ml 농도로 조정하여 0.1 ml씩 복강 주사하였다. 인위 감염 후 2주 동안 누적폐사율을 조사하고, 대조구의 폐사율이 60% 이상일 때 백신 접종구의 상대생존율을 산출하였다. 상대생존율은 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{상대생존율 (\%)} = [1 - (\text{시험구의 누적폐사율} / \text{대조구의 누적폐사율})] \times 100$$

5. 통계 처리

대조구와 각 실험구 사이의 유의성은 Student's *t*-test 로서 확인하였으며, P < 0.05의 수준에서 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 생산 직후 시험 백신의 안정성

가. 응집항체가

시험 백신을 1회 및 2회 접종한 후 시간 경과 별로 조사한 응집항체는 Table 2 및 Fig. 1 과 2에 나타낸 바와 같이 1회 접종구에서 4주째 2^{3.6},

8주째 2⁴으로 나타났으며, 2회 접종구의 경우에는 4주째 2^{7.2}으로 가장 높은 수치를 나타낸 후 12주째까지 2^{5.0}의 다소 높은 응집항체를 유지하는 것으로 나타났다.

나. 방어 효능

시험 백신을 1회 및 2회 접종한 후 3주째 *S. iniae* 균주로 인위 감염하여 누적폐사율 및 상대생존율을 조사한 결과는 Table 2에 나타난 바와 같다. 1회 접종구 및 2회 접종구에서 모두 10%의 낮은 누적폐사율을 나타내었으며 83.0%의 높은 상대생존율을 나타내었다. 그러나 응집항체가에서 나타난 결과와는 달리 1회 접종구와 2회 접종구 간에 방어력의 차이는 없는 것으로 나타났다.

2. 6개월 보존 백신의 안정성

가. 응집항체가

시험 백신을 4°C에서 6개월 보존한 후, 넙치에 면역시키고 응집항체의 변화를 조사한 결과는 Table 3 및 Fig. 1 과 2에 나타낸 바와 같다. 1회접종구에서는 2주 및 4주째 평균응집항체가

Table 2. Immune responses of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* vaccinated by formalin-killed *Streptococcus iniae* stored for 0 month

Treatment group ¹⁾ (n=60)	Serum antibody response (average of agglutination titers, log ₂ , n=10)					Cumulative mortality ³⁾ (%)	RPS ⁴⁾ (%)
	pre-vaccination	2weeks	4weeks	8weeks	12weeks		
Control	0	0.4	0	0	0	60.0	-
Prime injection	0	1.2 ± 0.44	3.6 ± 0.89	4.0 ± 1.22	2.4 ± 0.54	10.0	83.0
Booster injection ²⁾	0	1.2 ± 0.44	7.2 ± 0.80	7.0 ± 0.89	5.0 ± 0.84	10.0	83.0

¹⁾ Sixty flounders were vaccinated by intraperitoneal injection per each group.

²⁾ Fish were boosted with the same vaccine after 2 weeks of the first injection.

³⁾ Twenty flounders were challenged with the virulent *S. iniae* at 3 weeks after prime or booster vaccination.

⁴⁾ RPS = [1 - (cumulative mortality of vaccinated group / cumulative mortality of control group)] × 100.

Table 3. Immune responses of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* vaccinated by formalin-killed *Streptococcus iniae* stored for 6 months at 4°C

Treatment group ¹⁾ (n=60)	Serum antibody response (average of agglutination titers, log ₂ , n=10)					Cumulative mortality ³⁾ (%)	RPS ⁴⁾ (%)
	pre-vaccination	2weeks	4weeks	8weeks	12weeks		
Control	0	0	0	0	0	80.0	-
Prime injection	0	1.4 ± 0.54	3.2 ± 1.78	3.4 ± 2.40	2.4 ± 1.67	30.0	62.5
Booster injection ²⁾	0	1.4 ± 0.54	7.6 ± 0.89	5.8 ± 2.38	5.2 ± 1.09	10.0	87.5

1), 2), 3), 4), Refer to Table 2.

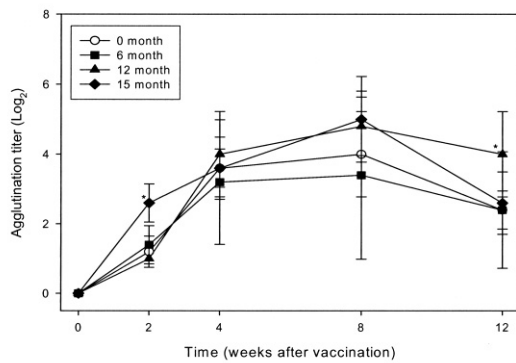


Fig. 1. Change in agglutination titers against *Streptococcus iniae* FKC of serum collected from olive flounder, *Paralichthys olivaceus* vaccinated by prime injection of formalin-killed *S. iniae* vaccine following storage at 4°C for 0, 6, 12 and 15 months. *, Significantly higher than the group immunized with vaccine stored for 0 month ($P < 0.05$).

가 각각 $2^{3.2}$ 및 $2^{3.4}$ 로 나타났으나, 2회접종구의 경우 4주째 급격하게 증가하여 $2^{7.6}$ 으로 나타났으며 12주째까지 $2^{5.2}$ 으로 높은 항체가 유지되는 것으로 나타났다.

나. 방어 효능

6개월 보존 백신으로 면역시킨 시험어의 방어 효능을 조사한 결과 1회 접종구 및 2회 접종구에서 각각 62.5% 및 87.5%의 상대생존율을 나타내어 생산 직후의 방어 효능과 비슷한 수준을

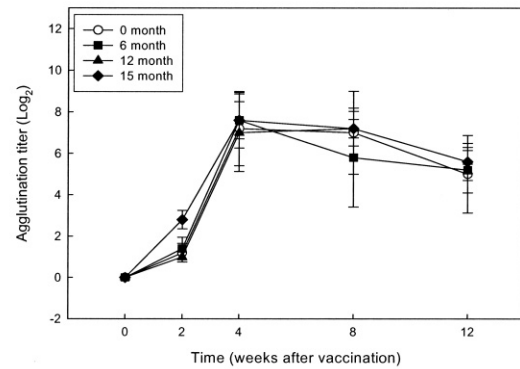


Fig. 2. Change in agglutination titers against *Streptococcus iniae* FKC of serum collected from olive flounder, *Paralichthys olivaceus* vaccinated by booster injection of formalin-killed *S. iniae* vaccine following storage at 4°C for 0, 6, 12 and 15 months.

유지하는 것으로 나타났다 (Table 3).

3. 12개월 보존 백신의 안정성

가. 응집항체가

4°C에서 12개월 보존한 시험 백신의 응집항체가 변화는 Table 4 및 Fig. 1과 2에 나타난 바와 같이 1회 접종구에서는 4주째 평균 응집항체가 $2^{4.0}$ 으로 증가하였으며 8주째 $2^{4.8}$ 으로 최고치를 나타내었다. 2회 접종구에서도 4주째 급격하

Table 4. Immune responses of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* vaccinated by formalin-killed *Streptococcus iniae* stored for 12 months at 4°C

Treatment group ¹⁾ (n=60)	Serum antibody response (average of agglutination titers, log ₂ , n=10)					Cumulative mortality ³⁾ (%)	RPS ⁴⁾ (%)
	pre-vaccination	2weeks	4weeks	8weeks	12weeks		
Control	0	0.6	0	0	0	70.0	-
Prime injection	0	1.0 ± 0.00	4.0 ± 1.22	4.8 ± 0.83	4.0 ± 1.22	20.0	72.0
Booster injection ²⁾	0	1.0 ± 0.00	7.0 ± 1.87	7.2 ± 0.83	5.6 ± 0.89	10.0	86.0

1), 2), 3), 4), Refer to Table 2.

Table 5. Immune responses of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* vaccinated by formalin-killed *Streptococcus iniae* stored for 15 months at 4°C

Treatment group ¹⁾ (n=60)	Serum antibody response (average of agglutination titers, log ₂ , n=10)					Cumulative mortality ³⁾ (%)	RPS ⁴⁾ (%)
	pre-vaccination	2weeks	4weeks	8weeks	12weeks		
Control	0	0	0	0	0	80.0	-
Prime injection	0	2.6 ± 0.54	3.6 ± 0.54	5.0 ± 1.22	2.6 ± 0.89	20.0	75.0
Booster injection ²⁾	0	2.6 ± 0.54	7.4 ± 1.34	7.2 ± 0.44	5.6 ± 0.54	5.0	94.0

1), 2), 3), 4), Refer to Table 2.

게 증가하여 2^{7.0}으로 나타났으며 8주째 2^{7.2}으로 최고치를 나타내었다가 12주째까지 2^{5.6}의 높은 항체가가 유지되는 것으로 나타났다.

나. 방어 효능

12개월 보존 백신으로 면역시킨 시험어를 대상으로 방어 효능을 조사한 결과 1회 접종구 및 2회 접종구에서 각각 72.0% 및 86.0%의 상대생존율을 나타내어 생산 직후 및 6개월 보존 백신의 방어 효능과 비슷한 수준을 유지하는 것으로 나타났다 (Table 4).

4. 15개월 보존 백신의 안정성

가. 응집항체가

15개월 보존한 백신으로 면역시킨 시험어의 응집항체는 Table 5 및 Fig. 1과 2에 나타난 바와 같다. 1회 접종구에서는 4주째 평균응집항체가 2^{3.6}으로 증가하였으며 8주째 2^{5.0}으로 최고치를 나타내었으며, 2회 접종구의 경우 4주째 급격하게 증가하여 2^{7.4}으로 최고치를 나타낸 다음 이후 8주째 2^{7.2}, 12주째 2^{5.6}의 높은 항체가가 유지되는 것으로 나타났다.

나. 방어 효능

15개월 보존한 시험 백신으로 면역시킨 시험어를 대상으로 방어 효능을 조사한 결과는 Table 5와 같다. 1회 접종구 및 2회 접종구에서 각각 75.0% 및 94.0%의 상대생존율을 나타내어 생산 직후, 6개월, 12개월 보존 백신의 방어 효능과 비슷한 수준을 유지한 것으로 나타나 15개월 보존 후에도 백신의 효능이 유지되는 것으로 나타났다.

고 찰

어류 백신은 Duff (1942)에 의해 무지개송어의 부스럼병 (furunculosis)에 대한 백신 개발이 최초로 시도되었으며, 1976년 enteric red mouth (ERM) 백신이 최초로 상업적으로 허가되어 판매 (Ellis, 1988)된 이후 현재까지 다양한 수산용 백신이 개발되어 양식 현장에 공급되고 있다.

현재 국제적으로 시판되고 있는 수산용 세균 백신으로는 은어와 연어과 어류의 비브리오병 백신, 연어과 어류의 구적병 백신, 부스럼병 백신, 냉수성 비브리오병 백신, 방어의 장구균증 백신, 유럽 농어의 유결절 백신, 미국 메기의 에드워드병 백신, 담수어의 콜롬나리스병 백신, 방어의 α -용혈성 연쇄구균증 불활화 백신, 방어의 α -용혈성 연쇄구균증과 비브리오 불활화 혼합 백신 등이 있으나 (中西照幸, 2000), 국내에서는 국내 기술로 개발된 넙치의 에드워드 불활화백신 및 일본 제품을 수입해 판매하고 있는 참돔의 이리도바이러스 불활화백신만이 시판되고 있어 연쇄구균증과 같이 해마다 발생하여 많은 피해를 야기시키는 질병에 대한 백신 개발이 시급한 실정이다.

연쇄구균증은 넙치의 주요 세균성 질병 중 하나로서 다양한 양식 연령에 감염되며 연중 검출되고 있어 심각한 경제적 손실을 야기하는 질병이다. 현재까지 넙치 연쇄구균증의 주요 병원체 구명 및 백신 개발을 위해 많은 연구가 진행되고 있으나 조사 시기 및 지역에 따라 다양한 연

쇄구균이 원인균으로 지목되고 있으며 (이와 하, 1991; 오 등, 1998; 이 등, 2001; Baeck *et al.*, 2006), 분리 균주간의 특성과 병원성에 관한 연구 결과가 부족해 예방 백신 개발이 실용화되지 못하고 있는 실정이다.

백신의 효능을 판정하는 가장 보편적인 방법으로는 혈중 항체가 및 방어율 등을 지표로 사용하고 있는데, 혈중 항체가의 개체 차이와 방어력과 상관이 낮아 혈청화적인 방법만으로는 백신의 효능을 판정하기 어려워 미국의 Code of Federal Regulation (CFR), European Pharmacopoeia 및 우리 나라의 국가 검정기준은 공격 접종에 의한 임상 증상 방어율로 백신의 효능을 평가하고 있다 (한 등, 2002).

본 연구에서는 국립수산물과학원 병리연구팀에서 개발하여 산업체에 기술 이전한 연쇄구균증 불활화백신의 산업화를 위하여 녹십자수의약품(주)에서 제작한 시험용 백신을 사용하여 실험실 수준에서 넙치를 대상으로 보존 기간별 안정성 시험을 실시하였다. 그 결과, 보존 기간별로 실험에 사용한 넙치 개체군에 따라 응집항체가에서 다소 차이가 나타났으나 응집항체가 및 방어 능력이 감소하지 않은 것으로 나타났다. 또한, 백신의 효능 시험에 있어 1회 접종구와 2회 접종구 간에 항체가 수준이 유의적인 차이가 나타났으며 공격 실험 결과에서도 2회 접종구에서 높은 방어력이 확인되었다. 그러나 일정 수준 (2²) 이상의 항체가가 유도될 경우 1회 접종만으로도 60% 이상의 방어 효과가 나타남을 확인할 수 있었다.

백신의 안정성은 제품의 성질, 생산 절차 및 보관 상태에 따라 좌우되는데, 일반적으로 생독 백신의 경우 열악한 보존 상태에서는 항원의 생명력이 감소함에 따라 백신으로서의 효능을 잃어버리게 되는 경우가 많은 반면 불활화백신은 매우 높은 안정성을 가지는 것으로 알려져 있다 (Corbel, 1996; Stainer and Hart, 1978). 본 연구에서도 시험 백신을 4°C에서 15개월 보존한 후에도 면역 효능의 감소가 확인되지 않아 시판용

백신으로서의 높은 안정성을 확인할 수 있었다. 그러나, 항체가의 지속성으로 볼 때 1회 접종구에 비해 2회 접종구에서 높은 항체가가 유도되었으며 면역 효능 또한 더 오랜 기간동안 유지되는 것으로 나타나 추후 백신 접종 횟수에 따른 방어 효과의 지속성을 장기간에 걸쳐 비교할 필요가 있을 것으로 판단되었다.

우리 나라에서는 동물용 생약제제의 경우 불활화 세균백신을 제작할 때 항원의 변성 및 오염을 방지하기 위해 페놀, 포르말린 또는 지메로살 등을 방부제로서 허용하고 있다 (국가검정동물용의약품검정기준, 1995). 그러나 어류에서 이들 방부제의 안전성 및 백신의 안정성에 대한 연구는 찾아보기 힘든 실정이다. 본 연구에서는 시험 백신의 안정성을 높이기 위해 동물용 생약제제의 방부제로 허가되어 있는 포르말린을 허용 기준인 0.2% 이하로 첨가한 결과 미첨가 시험군에 비해 높은 안정성을 확인할 수 있었으며 (결과 미표기), 보존 기간 동안 모든 시험 넙치에 대한 안정성을 확인할 수 있었다.

일반적으로 백신은 2~8°C에서 냉장 보관하도록 권장하고 있으나 어류 양식장의 경우 항생제 및 기타 치료용 약제를 실온에서 보관하는 경우가 많아 백신의 안정성이 제대로 유지되지 않는다면 질병에 대한 예방 효과뿐만 아니라 대상 어류에 대한 안전성에서도 큰 영향을 미칠 수 있다. 현재 백신을 장기간 보관하는 방법으로 여러 가지의 동결 건조 방법이 이용되고 있지만 비용이 많이 들어 널리 사용되지 않고 있는 실정이다 (성, 1997). 따라서 추후 백신의 안정성을 높힘으로써 실온이나 더 높은 온도에서 장기간 보관할 수 있는 방법이 개발된다면 보다 쉽게 양식 현장에서 백신 접종이 이루어져 감염성 질병을 미연에 예방할 수 있게 될 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 *Streptococcus iniae* 포르말린 불활화

백신을 냉장 보관한 후 보존 기간별로 넙치에 접종하여 면역 효능 및 안정성을 조사하였다. 그 결과 6, 12, 15개월 보존한 후에도 면역 효능의 감소가 확인되지 않아 백신으로서의 높은 안정성을 확인할 수 있었다. 또한, 1회 접종구에 비해 2회 접종구에서 높은 항체가가 유도되었으며 방어력도 증가하는 것으로 나타났다. 특히, 1회 접종만으로도 낮은 항체가에도 불구하고 60% 이상의 방어 효과가 나타남에 따라 항체 이외의 세포성 면역이 방어력 형성에서 중요한 역할을 하는 것으로 추정되었다.

감사의 글

본 연구는 국립수산과학원 (넙치 연쇄구균증 불활화 백신의 산업화 연구, RP-2006-AQ-008)의 지원에 의해 운영되었습니다.

참 고 문 헌

- Baeck, G. W., Kim, J. H., Gomez, D. K. and Park, S. C.: Isolation and characterization of *Streptococcus* sp. from diseased flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Jeju island. J. Vet. Sci., 7: 53-58, 2006.
- Corbell, M. J.: Reasons for instability of bacterial vaccines. Dev. Biol. Stand., 87: 113-124, 1996.
- Duff, D. C. B.: The oral immunization of trout against *Bacterium salmonicida*. J. Immunol., 44: 87-94, 1942.
- Ellis, A. E.: General principles of fish vaccination. In Fish vaccination (Ed. Ellis, A. E.), pp. 1-19, Academic Press, 1988.
- Stainer, D. W. and Hart, F. E.: The stability of bacterial vaccines at elevated temperatures. Dev. Biol. Stand., 1978.
- 中西照幸: 일본의 어병 대책과 백신개발 현황. 건강어류 생산을 위한 어병예방 및 치료

- 대책, 국립수산진흥원, 167-185, 2000.
- 성인화: 당첨가가 B형 간염바이러스 백신의 안정성에 미치는 영향. 대한바이러스학회지, 287(2): 143-149, 1997.
- 이덕찬, 이재일, 박찬일, 박수알, 해산 양식어류로부터 분리된 연쇄구균증의 원인균, *Lactococcus garvieae* 에 대한 연구. 한국어병학회지, 14(2): 71-80, 2001.
- 이창훈, 하동수: 養殖 넙치의 連鎖球菌症. 한국어병학회지, 4(2), 71-77, 1991.
- 오상필, 김대환, 이정재, 이창훈: 제주도 양식넙치의 세균성질병 발생상황 (1991년-1997년). 한국어병학회지, 11(1): 23-27, 1998.
- 한명국, 이오수, 김재홍: 닭전염성 후두기관염 생독백신의 안전성과 효능. 한국 수의학회지, 42(2): 241-251, 2002.

Manuscript Received : March 23, 2006

Revision Accepted : June 5, 2006

Responsible Editorial Member : Kwan-Ha Park
(Kunsan Univ.)