

효과적인 구제역 백신 바이러스 사용에 대한 고찰



박종현
 농림축산검역본부 동식물위생연구부
 구제역진단과 수의연구관
 parkjhvet@korea.kr

구제역바이러스는 많은 종류의 혈청형 및 지역형이 존재하며 시간이 지남에 따라 지속적으로 표면 항원이 변화되어 진화를 거듭하고 있으며 새로운 유형의 바이러스로 변이되어 항원성이 달라지기도 한다. 따라서 이러한 질병을 예방하는 구제역 백신주의 선택은 그리 쉬운 일이 아니다. 구제역 바이러스는 유전적으로 변하기 쉬운 RNA 바이러스의 특징을 지니고 있으며, 특히 유럽-아시아형(Eurasian serotypes)이 아시아, 아프리카 및 남미지역에 발생하면서 항원적인 변이가 가장 많이 발생하고 있다. 7가지 혈청형 중에서 O형이 세계적으로 가장 많이 발생하며, A형은 지역적으로 넓게 분포하고 있는 혈청형이다. 이 글에서는 우리나라 주변의 구제역 발생상황과 이와 연계한 현재 사용하고 비축되고 있는 구제역 백신주에 대한 방어효율성에 대해서 고찰해보고자 하였다.

유효 백신주의 확인

적절한 백신주의 선별은 구제역 방역에 있어서 매우 중요한 요소이며 감염지역에서의 백신 프로그램의 적용에서 필요하다. 새로운 발생에 대비한 백신항원의 비축과 유지는 필수적인 부분이다. 구제역 백신은 동일한 1개의 혈청형이외 다른 혈청형을 방어하지 않는다. 간혹 같은 혈청형내에서도 방어되지 않는 경우도 종종 있다. 따라서 직접적이고 믿을 만한 방법을 사용하는 것이 필요하며, 교차방어 시험법은 목적 축종에 면역 후 공격접종 하는 것이다. 이것으로 백신의 효력과 교차반응성을 확인할 수 있는 효과적인 방법이다. 그러나 살아있는 생 바이러스의 사용과 엄격한 생물학적 안전이 요구된다. 이 방법은 시간과 비용이 많이 소요되며 특별한 전문성을 요한다. 실험실내 시험으로 대체가 가능하다면 동물의 사용은 피하는 것이 좋다. 실험실에서 분석되는 혈청학적 방법으로 항원성 변화측정은 바이러스간에 항원적인 차이를 정량

분석할 수 있으며, 이것은 백신주와 야외주 사이에 교차 방어를 추정할 수 있다.

유전적인 특징분석과 항원의 프로파일링은 새로운 바이러스의 출현을 확인할 수 있고 반대로 백신매칭 정보에 의해서 이미 사용 가능한 유사한 항원형의 백신주를 확인할 수 있다.

백신의 항원량은 동물의 방어범위와도 관련이 있다. 고역가의 백신을 사용할 경우 강한 면역반응으로 이질적인 바이러스(heterologous virus) 일지라도 방어가 가능할 수 있으며, 2차 백신접종으로 완벽한 방어는 어렵더라도 방어를 증가시키고 항원성에 따른 방어 범위도 확장될 수 있다.

백신매칭을 위한 야외 분리주 및 백신주의 선정방법

구제역 백신 매칭을 위해서는 1개 이상의 바이러스 분리주를 이용하여 평가되어야 한다. 바이러스는 역학적인 정보 즉, 다른 지리학적 위치 또는 다른 숙주로부터 다른 발생시점에 분리된 것으로 선정해야 한다. 낮은 방어능으로 인한 백신 효능의 감소는 백신 매칭으로 확인이 가능하다. 야외주의 혈청형은 주로 효소면역법 (ELISA) 등으로 결정이 된다. ELISA에 의해서 유효한 항원 프로파일링을 수행하고 바이러스 유전자 중에서 VP1 단백질에 대한 염기서열을 분석함으로써 바이러스 분리주 간 동질성을 확인할 수 있다.

백신주 간의 중요한 차이를 보이는 분리주를 사용하여 백신 매칭실험에 사용하는 것이 좋다. 바이러스의 혈청형, 바이러스의 분리지역, 야외주의 특징에 대한 정보, 유래 지역에 사용되는 백신주가 백신 매칭실험을 위해 백신주의 선정에 위한 지침이 될 수 있다. 특별히 백신주 매칭을 위한 표준 구제역 항체 등 필요한 재료의 구비가 실험의 가능여부를 결정한다. 구제역바이러스의 항원적 특징 분석이 중요한 이유는

특별한 환경에서 사용되는 가장 효과적인 백신주를 선정하고, 전략적으로 유지하는 항원뱅크의 백신주의 적합성을 모니터링하는 것이다.

구제역 백신 매칭법의 절차와 해석

야외주와 백신주사이의 혈청학적 관련성(r value)는 바이러스 중화시험법(VNT)와 효소면역법 (ELISA)에 의해서 결정될 수 있다. One way 법 (r1)은 백신 항혈청을 사용하는 방법으로 추천되는 방법이며, two way법 (r2)는 야외 항혈청이 실험에 사용되므로 자주 사용하지는 않는다.

VNT는 ELISA보다 더욱 신뢰성이 있으며, VNT는 일반적인 실험법보다 방어능과 깊은 관련성이 있다. 이에 따라 VNT는 ELISA보다 선택적으로 사용될 수 있다. VNT 또는 ELISA를 위해서는 백신 접종 후 소의 경우 최소 5두에 대하여 21-30일 후에 혈액을 채취하고 백신주에 대한 항체수준을 측정해야 하고 낮은 반응성 혈액은 제외하고 혈액은 개별로 사용하거나 여러마리의 혈액을 합해서 사용할 수 있다.

1) 야외주와 백신주와의 관련성 측정법

일반적으로 추천되는 표준방법은 VNT이다. ELISA법은 스크리닝법으로 사용될 수 있다. ELISA에 의한 백신 매칭법은 Liquid-phase blocking ELISA (LPBE) 법이 가능하다. VNT는 백신주로부터 생성된 항혈청을 사용한다. 백신주와 야외주를 100 TCID₅₀ (50% 배양세포 감염량) 같은 양으로 항원적으로 유사하다는 것을 확인하기 위해 비교시험이 가능하다. 이 방법은 일반적으로 사용하는 VNT와 유사하며 단가 백신 접종 후 21-30일후 채혈한 소 혈청을 이용한다. 소 혈청을 56℃에서 45~60 분간 비동화 처리하고 백신 바이러스, 백신주와 같은 혈청형의 야외분리주를 준비한다.

야외주는 세포배양에서 100% 세포변성효과 (CPE)가 형성될 때까지 세포배양을 통하여 적응시키고, 최소한으로만 계대한다. End-point titration으로 바이러스 역가 (log10 TCID₅₀/ml)를 결정한다. 체커판식 역가측정 방식으로 백신 바이러스에 대해서 백신접종 혈청을 이용하고 37℃에서 48-72시간에 CPE를 관찰한다. 백신주 및 야외주에 대한 백신접종 항혈청에 대한 항체역가를 Spearman-Kärber method으로 측정하여 계산한다. 각 바이러스 감염량 100 TCID₅₀에 대응하는 항체에 수준으로 측정될 수 있다. 그 관련성은 아래와 같은 술식으로 r1 value가 산출될 수 있다.

야외주에 대한 표준 항혈청의 산술 평균 항체역가의 역수
(reciprocal arithmetic titre of reference serum against field virus)

r1 =

백신주에 표준 항혈청의 산술 평균 항체역가의 역수
(reciprocal arithmetic titre of reference serum against vaccine virus)

2) 백신매칭 결과의 해석과 기타 추가실험

백신 매칭 시험결과에 대한 해석은 그 결과가 0.3 이상의 결과가 나오면 야외주와 백신주가 충분히 관련성이 있고 방어할 수 있다는 것을 보여주며, 0.3 미만이면 백신주와는 항원성이 다를 수 있다는 것으로 다른 백신주를 고려하거나 야외주는 이질성(heterologous) 바이러스로 교차공격 접종으로 백신을 재 평가할 수 있다. 또, 다른 방법은 야외주를 세포에 적응시켜 새로운 백신주로 적합하게 만드는 것이다.

백신매칭 시험법은 1회 이상 수행하고 바이러스 간에 수치값(value)이 정해져야하며 반복적인 실험으로 신뢰성을 높이는 것이 좋다. 최소한 3번의 반복 실험이 추천된다.

면역학적 상관성 즉, r-value가 낮을 경우 백신주의 적합성은 이질성 바이러스로 공격시험을 함으로써 평가될 수 있다. 적어도 구제역 항체가 없는 7마리의 소를 이용하여 백신을 접종한 후 28-30일에 모든 동물을 2차 접종을 시도하고 이 시점에서 2번째 동물 군으로 소 7마리를 이용하여 같은 용량과 부위에 백신을 접종한다. 30일이 지난 후에 2개 그룹에 10,000 BID₅₀ (50% bovine infective dose)으로 공격 접종한다. 2마리의 대조군에 대해서 적어도 족부병변이 3개 족부에서 증상이 나와야 유효한 실험으로 인정된다. 마지막 결과는 그룹당 공격 접종후 방어된 동물의 수(족부 증상이 없는 동물 수) 또는 전체동물을 100%으로 하여 방어된 동물 수를 방어율로 산정한다. 75% 미만의 방어율을 보일 경우와 백신을 2번 접종한 동물에서 방어율이 100% 미만을 보일 경우 다른 적절한 백신주를 선정하는 것이 추천된다.

기대 방어율 측정법 (Expected Percentage of Protection (EPP) method)은 이질적인 성질의 바이러스에 대하여 적용하는 것은 추천하지 않는다. 이 방법은 VNT 또는 ELISA법을 사용하여 백신접종후의 항혈청 패널의 반응성을 측정하는 것으로 방어의 가능성을 항체역가와 연계시킬 수 있다. 동일한 성질(homologous)의 백신주에 대한 방어 상관관계를 보여주는 표를 작성하여 관련성을 설정할 수 있다. 그러나, 항혈청 패널과 연계된 공격 시험결과와의 상관성은 다른 바이러스주까지 적용시켜 추정적으로 판단되기는 어렵다.

세계적인 구제역 발생 상황과 유행되는 바이러스 유형

구제역 혈청형 7종 중 C, SAT1, SAT2, SAT3형을 제외하고 우리나라 주변지역에 3종 즉, O, A, Asia1형 구제역이 지속적으로 발생되어 우리나라에 위협을 주고 있으며, 우리나라도 2011년 이후 주변지역의 유입으로부터 구제역에 대한 방어를 위하여 O, A, Asia1형에 대한 3가 백신을 지속적으로 접종하고 있다. 그러나 현재까지 국내 구제역 5번의 발생은 모두 동아시아 또는 동남아시아로 부터의 유입으로 추정되고 있기 때문에 주변지역의 구제역 발생에 대한 상황을 지속적으로 확인하는 것은 매우 중요한 일이다.

2010년 이후에 우리나라와 지정학적으로 가장 가까운 위치에 있는 동아시아지역은 O형 및 A형이 주로 발생되고 있다. O형은 SEA/Mya-98, ME-SA/PanAsia, Cathay 지역형의 발생이 있으며, A형의 경우는 ASIA/Sea-97의 발생이 있다. 동남아시아 지역에도 O형은 ME-SA/PanAsia, SEA/Mya-98와 A형은 ASIA/Sea-97이 주로 발생하고 있다.

우리나라에서 사용하는 구제역 백신주

현재 국내의 구제역 백신은 주변국의 발생을 고려하여 적절히 선택된 3가 백신주(O1 Manisa, A May97, Asia1 Shamir)로 집중하고 있지만 해외로부터 유입되는 구제역 바이러스의 모두를 완벽히 방어하지는 못 한다.

우리나라 주변지역에서 발생하는 대부분 O, A, Asia1형으로 이 발생유형의 toptype 또는 lineage는 우리나라에서 사용되는 백신주인 O1 Manisa, A May97, Asia1 Shamir의 3가지 혈청형과 관련성이 높아 유입시에도 대부분 방어가 가

능할 것으로 생각되나, 기타 방어가 어려운 혈청형이 유입될 경우를 대비하여 항원뱅크에 A22형을 비롯한 기타 혈청형에 대비하여 C Oberbayern, SAT1 SA, SAT2 SA, SAT3 SA3 바이러스 항원뱅크가 비축되어 있으므로 긴급시에 사용이 가능하다 (Table 1).

구제역의 모든 혈청형에 대한 백신을 구비할 수 없는 현실에서 각 혈청형의 방어에 맞는 광범위 숙주 영역의 효과적인 백신을 선정하는 것은 중요하다.

동아시아 지역에서 발생하는 O형 Cathay지역형은 현재 사용하고 있는 O Manisa 백신주에 대하여 방어능이 낮은 것으로 평가되어 유입시 주의를 요한다. O Cathay는 대만과 홍콩 등에서만 발생되고 있지만 우리나라에서 사용되고 있는 백신으로는 방어하기 어려울 수 있기 때문에 발생시 위협이 될 가능성도 존재한다. 일부 지역에서 발생하는 바이러스(A/ASIA/Iran-05, O/ME-SA/PanAsia-2 등)에서 국내사용 백신으로 방어가 어려운 유형이 존재한다 (Table 2).

이러한 예상하지 못한 바이러스 유형이 발생하여 현재 사용되는 백신접종으로는 방어효율이 낮을 경우 비축 항원을 긴급히 교체하여 사용할 수도 있다.

Table 1. 우리나라에서 사용되는 구제역 백신 바이러스 주

Types	Serotype or strains of FMD vaccine		
	O	A	Asia1
Trivalent Vaccine	O1 Manisa	A May97	Asia1 Shamir

* 추가적 항원뱅크 비축 백신주 : A22 Iraq, C Oberbayern, SAT1 SA, SAT2 SA, SAT3 SA3

Table 2. 최근 발생되는 아시아(중동포함) 지역 구제역과 주요 백신주의 백신 매칭 상황 (2009-2012)*

Vaccine strains	Matching**		No matching	
	Field strain (Topotypes or strains)	Origin	Field strain (Topotypes or strains)	Origin
O Manisa	O SEA/Mya-98 (May 12(16)/12)	Malaysia	ME-SA/PanAsia	Thailand
	ME-SA/PanAsia-2 (FAR-09)	Iran	ME-SA/PanAsia-2 (ANT-10)	Afghanistan, Bahrain, Iran
	ME-SA/PanAsia (VT 13(7,8,22)/2012)	Vietnam	VT 2(1, 12)/2012	Vietnam
	PAK 01(25,42,76,116) / 2010PAK 10/11 PAK 62/2011, PAK 84/2011	Pakistan	HKN 24(26)/2010 HKN 1(2,8,9)/2011	Hong kong
	TAI 4/2009,TAI 06/2010	Thailand	MOG 3(4, 9)/2010	Mongolia
	CAM 05/2010	Cambodia	CAM 01/2010	Cambodia
	MYA 3/2010	Myanmar	MYA 13/2009	Myanmar

Vaccine strains	Matching**		No matching	
	Field strain (Topotypes or strains)	Origin	Field strain (Topotypes or strains)	Origin
A May97	PAK 39/2012	Pakistan	ASIA/Sea-97	Malaysia, Thailand
			PAK 6/12	Pakistan
			TAI 1(13, 17)/11	Thailand
A22 Iraq	PAK 6/12 (PAK 13/2012) PAK 12(24)/2010	Pakistan	IRN 12(15,22)/2012, IRN 73/2009 IRN 36(80,125)/2010, IRN 45/2011	Iran
	TAI 1(13, 17)/11	Thailand		
	IRN 55/2011, IRN 50/2009, IRN 36/2011	Iran		
	IRQ 5/2010	Iraq		
	VIT 17/10	Vietnam		
MAY 2(20)/11	Malaysia			
Asia1 Shamir	Asia/Sindh-08 (6PD50)	Afghanistan Iran, Turkey	IRN 54/2011, IRN 33/2011, IRN 38/2011, IRN 43/2011, IRN 46/2011	Iran
	IRN 14/2012, IRN 23/2012	Iran	IRN 10/2012	Iran
	PAK 91/2011, PAK 89/2011	Pakistan	PAK 108/10, PAK 50/11, PAK 51/2011	Pakistan

* OIE 세계표준연구소 보고서 참조 (<http://www.wrlfmd.org>)

** Matching은 r1 value가 0.3 이상

국내 구제역 방어를 위한 백신주에 대한 고찰

구제역은 여러 혈청형과 지역형이 존재하기 때문에 백신주를 선정하기가 상당히 까다로운 질병중 하나이다. 매년 유행하는 인플루엔자의 백신주 선정이 어려운 문제와 유사하다. 구제역은 항원형이 많이 존재하고 야외에서 바이러스의 항원변이가 심하기 때문에 백신 접종 전에 적절한 분석을 통해 백신주를 선정하여 접종하여야 한다.

주변지역의 발생상황을 지속적으로 점검하고 무슨 바이러스가 유행하는 지 확인하여 백신주와 관련성이 있는 지를 지속적으로 분석해야 할 것이다. 현재 우리나라 주변에는 A형 ASIA/Sea-97계열의 구제역 발생이 증가 추세에 있고, O형은 ME-SA/PanAsia, SEA/Mya-98 계열의 발생이 지속되고 있다. 이러한 바이러스는 현재 사용되고 있는 3가 백신으로도 방어가 충분히 가능한 백신으로 판단되나 간혹 변이주가 발생하여 같은 지역형이라도 방어가 어려운 경우도 있으므로 백신접종을 철저히 실시하고 있더라도 완전히 안심할 수는 없다.

중국에서 유행하는 A형은 소에서 주로 발생되고 있으며, 대만 등 일부 아시아 지역에서 O형 Cathay 지역형의 발생이 있으며 돼지 친화성이 있는 바이러스이다. 특히 Cathay 지역형은 현재 백신과 면역학적 상관성이 낮아 방어율이 낮을 것

으로 예상되므로 유입되지 않도록 이에 대비하여 철저하게 국경검역을 해야 할 것이다. 특히 소에 비해 낮게 형성되고 있는 현재 돼지의 백신항체 형성율은 Cathay 지역형 바이러스의 유입시 더욱 위협을 가중시킬 수 있다.

구제역 백신접종은 소는 물론 돼지에서도 지속적으로 철저히 시행되어야 하고 다른 바이러스 유입에 대비하여 방어율을 높일 수 있도록 하는 방안도 필요할 것이다. 백신주와 야외발생주의 면역학적 상관성이 낮더라도 고역가(6 PD50 이상)의 백신이 접종될 경우 또는 2차 접종으로 그 면역학적 상관성(r1 value) 또는 실제적인 야외에서의 방어율을 향상시킬 수 있기 때문에 이러한 점을 충분히 고려하여 백신프로그램을 선정하여야 한다.☺

참고 문헌

- OIE Terrestrial Manual, FMD, Chapter 2.1.5, May 2012
- 구제역세계표준연구소 <http://www.wrlfmd.org>