國內 아류산밍크病의 發生調査 研究

元 松 大
蓮庵畜産專門大學

Ⅰ. 緒 論

1980년 蓮庵畜産專門大学実習農場에서 飼育하고 있는 4 種類의 Mink 880頭를 対象으로 Aleutian Mink病의 発生状況을 調査하기 위하여 Iodine Agglutination test (I. A. T.: 沃度凝集反応)를 実施한 바 8.8%의 陽性率을 나타내었다. 이結果 Aleutian Mink病의 発生이 本農場에 確実함을 暗示하였다. 그리하여 特異的인 血清反応인 交叉免疫 電気泳動法으로 880두를 再検査한 結果 50.5%의 Mink가 本病에 感染되었음이 確診되었기에 그 結果를 綜合 報告하는 바이다.

Aleutian Mink Disease는 1956년 Hartsough와 Gorham[1]에 의하여 美国에서 처음으로 報告된후 現在 모든 Mink飼育 国家들은 本病의 発生과 이에 따른 막대한 經済的 損失을 認定하고 있다[2].

본병은 Parvovirus의 일종인 Aleutian Disease Virus (ADV) 感染에 의한 慢性 免疫複合体性 疾病으로써[3,4] Plasmacytosis, Hypergamma Globulinemia, Arteritis, Glomerulonephritis 및 Anemia등의 病理学的인 所見을 나타냄이 特徵的이다[5].

本病은 水平 및 垂直感染으로 共히 중요한 伝染経路이기 때문에 防疫上 애로점이 많으며[6,7], 특히 Non-Aleutian Genotype Mink들이 가끔 不顯性 感染으로 耐過할때는 과거에 使用하였던 I. A. T. (沃度凝集反応)으로 罹患한 개체를 알수 없어 本病의 撲滅計劃에 差質을 초래하였다[8,9].

이병의 診断方法으로써는 病理組織学的 方法[10] 이외에 非特異的인 診断法으로써 沃度凝集反応[11], 電気泳動法[12] 이 과거에 使用된바 있다.

최근에 補体結合反応[13], 蛍光抗体反応[14], 寒天内沈降反応[15], 交叉免疫泳動法[16] 및 間接血球凝集反応 등[17] 特異的인 血清学的 診断法이 開発되었으며 이중 시술이 간편하며 정확한 交叉免疫, 電気泳動法이 가장 많이 사용되고 있다.

현재까지 本病의 予防 및 治療法이 없기 때문에 가장 효과적인 防疫 対策은 感染個体를 색출하여 淘汰하는 것이 최선의 방법으로 세계각국에서 널리 実施되고 있다.

Ⅱ. 材料 및 方法

供試動物 :

蓮庵畜産專門大学 実習農場에서 飼育하고 있는 4종의 Mink 880頭를 調査 対象으로 選定하였다.

血 清 (Serum) :

Mink 採血은 toe nail clipping method를 사용하여 毛細管에 採血한후 毛細管遠心分離機를 利用하여 血清을 分離하였다.

ADV抗原(ADV Anitgen) :

家畜衛生研究所에서 분양된 抗原을 사용하였으며 製造方法은 하기와 같다.

건강한 Mink를 10^7 LD_{50}량의 ADV를 人工感染시킨후 10일째 感染臟器(肝臟·脾臟·腸間膜림파선)를 採取하여 3번 凍結融解 처리하고 食鹽水로 30% 組織乳剤液을 生産하였다.

이組織液과 Fluorocarbon을 2 : 1비율로 混合 乳剤한후 7000G로 30분간 遠心分離하고 上層液을 採取하였다.

採取된 上層液은 Amicon Hollow Fiber Concentrator로 濃縮한후 ADV가 特異抗体에 活性을 보일때 까지 Fluorocarbon처리를 反復하였다.

완성된 抗原은 8 units로* 希釈하여 交叉免疫電気泳動에 사용하였다.

沃度凝集反応(I. A. T.) :

약 0.02ml의 가검血清 한방울과 同量의 Iodine Reagent**를 깨끗한 유리판위에 각반混合한후 1분후에 結果를 判定하였다.

混合液이 制限時間이내에 凝集反応을 보이면 陽性으로 判定하였으며, 混合液이 투명한 상태로 유지되면 陰性으로 간주 하였다.

交叉免疫電気泳動法(Counter immunoloelectrophoresis, CIEP) :

8×11cm크기의 유리판에 Barbital Buffer (pH8.6, Ionic Strength 0.025)로 완충한 1% Purified Agar 12ml을 包埋 凝固시킨후 직경3㎜의 동공을 7㎜간격으로 25조 형성한 다음陽極쪽에는 가검血清 그리고 陰極쪽에는 抗原을 충만시켰다.

준비된 寒天유리판은 Barbital Buffer (pH8.6)로 채워진 電気泳動機에서 20mA로 40분간 전기영동한후 結果를 判定하였다.

가검血清과 抗原사이에 특이한 직선 沈降帶가 나타나면 陽性反応으로 간주하였다.

혈청중 γ-Globulin검사 :

정상 또는 Aleutian Mink병에 感染된 Mink 血清중 γ-Globulin의 状態를 検査하기 위하여 Cellulose Acetate Electrophoresis, (CAEP)를 하기와 같이 実施하였다.

Cellulose Acetate Membrane을 Tris Barbital Buffer (pH8.8 Ionic Strength 0.025)에 20분간 沈漬한후 濾過紙로 과잉수분을 除去하고 가검血清을 Serum aplicator로 Membrane 위에 적용시켰다. 준비된 Membrane은 電気泳動機에서 300Volts로 45분간 전기영동한후 0.5% Ponceau S로 染色하고 5% Acetic Acid로 脱色하였다. 脱色된 Membrane은 Absolute Methanol과 13% Acetic Acid순으로 각각 1분간 処理하여 투명화한 후 70℃에서 건조하였다.

* Appendix 1

** Appendix 2

Ⅲ. 결 과

1980년 11월중 蓮庵畜産專門大学 実習場에서 飼育하고 있는 4종류의 Mink 880두를 대상으로 Aleutian Mink병의 発生状況을 파악하기 위하여 IAT를 実施한바(표 1) 8.8%의 陽性率을 보였다.

품종별 陽性率은 Pastel Mink가 16.3%, Z-Black Mink가 11.9%, Standard Dark Mink가 7.0%, 그리고 Sapphire Mink가 3.7%순으로 나타났으며 Aleutian Genotype와 Non-Aleutiang Genotype의 차이가 있다.

이 結果는 Aleutian Mink병이 本農場에 常在하였음을 確実히 証明함으로써 1981년 부터 本

病의 撲滅計劃을 수립코저 種畜으로 사용 가능한 880두의 Mink를 特異的인 血清反応인 交叉免疫電気泳動法으로 再検査한 結果 表2와 같은 結果를 얻었다.

총 880頭중 444頭가 CIEP Test에서 陽性으로 判定되어 약 50.5%가 本病에 感染되었으며 品種別로는 Pastel Mink가 77.0%, Sapphire Mink가 68.7%, Standard Dark Mink가 42.9%, 그리고 Z-Black Mink가 29.7%로 나타나 Aleutian Genotype와 Non-Aleutian Genotype 간에 통계학적 차이가 있었다.

種畜으로 사용하기 위하여 再検査한 880두의 Mink에 대한 CIEP結果와 IAT結果를 比較検討해 볼때(표3) Aleutian Genotype은 약 34.9%, 그리고 Non-Aleutian Genotype은 약 57.3%의 一致率을 나타냈으며 전반적으로 平均 53

〈표1〉 품종별 IAT양성 반응율

Color phase	Genotype	No. of mink tested	No. of Positive	Positive Ratio
Sapphire	aa	163	6	3.7%
	Subtotal	163	6	3.7%
Standard Dark	AA	414	29	7.0%
Z Black	AA	168	20	11.9%
Pastel	AA or aA	135	22	16.3%
	Subtotal	717	71	9.9%
	Grand Total	880	77	8.8%

〈표2〉 품종별CIEP 검사 성적

Color Phase	Genotype	No. of mink tested	No. of Positive	Positive Ratio
Sapphire	aa	163	112	68.7%
	Subtotal	163	112	68.7%
Standard Dark	AA	414	178	42.9%
Z Black	AA	168	50	29.7%
Pastel	aA or AA	135	104	77.0%
	Subtotal	717	332	46.3%
	Grand Total	880	444	50.5%

〈표3〉 CIEP와 IAT성적비교

Mink	Agreement (%)		Disagreement (%)		Agreement (%)
(Color Phase & Genotype)	CIEP− IAT−	CIEP+ IAT+	CIEP− IAT+	CIEP+ IAT−	
Sapphire (aa)	31.3 (51)	3.7 (6)	0 (0)	65.0 (106)	34.9 (57)
Subtotal	31.3 (51)	3.7 (6)	0 (0)	65.0 (106)	34.9 (57)
Standard Dark (AA)	53.6 (222)	4.1 (17)	2.9 (12)	39.4 (163)	57.7 (239)
Z Black (AA)	64.9 (109)	6.5 (11)	5.3 (9)	23.2 (39)	71.4 (120)
Pastel (aA or AA)	22.9 (31)	15.6 (21)	0 (0)	61.5 (83)	38.5 (52)
Subtotal	50.6 (362)	6.8 (49)	2.9 (21)	39.7 (285)	57.3 (411)
Grand Total	46.9 (413)	6.3 (55)	2.4 (21)	44.4 (391)	53.2 (468)

( ) *Figures in brackets are numbers of minks tested.

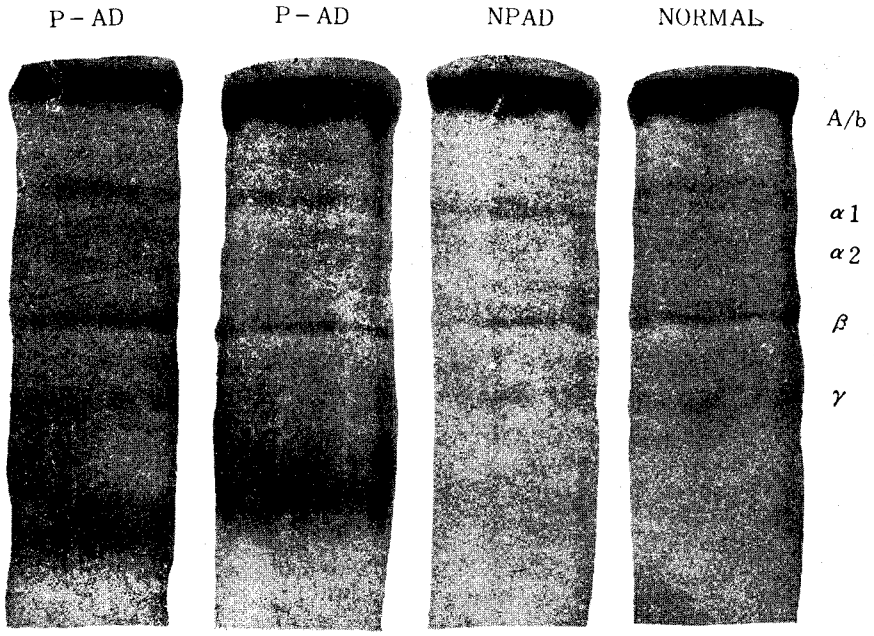
.2%의 一致率을 나타내는 것으로 보아 IAT 로 本病을 診斷할시 약 53.2%의 正確度 밖에 期待할수 없다. 특히나 IAT로 診斷할시 False Positive로 診斷될수 있는 가능성이 2.4%이며 또한 False Negative로 진단될수 있는 가능성이 44.4%로써 防疫상 問題点이 惹起되는 것은 너무나 분명하였다.

IAT로 診斷할시 False Positive는 Aleutian Genotype가 0%이며 Non-Aleutian Genotype가 2.9%로써 차이가 있으며, False Negative는 65%였으며 Non-Aleutian Genotype이 39.7%로써 差異가 있다.

정상 Mink 2頭와 Aleutian mink병에 感染된 6頭의 Pastel Mink血清의 혈중 γ-globulin정상을 調査하기 위하여 CIEP를 実施한바 사진 1에서 보는 바와 같이 1예의 感染血清(NPAD, Non-Progressive Aleutian disease)은 정상 Mink血清과 대소동이한 γ-Globulin 分布를 나타냈으며 이結果로 보아 본농장에서 不顯性 Aleutian Mink병이 Non-Aleutian Genotype 에 常存하여 IAT에서 陰性反応을 나타냄으로 本病撲滅計劃에 差質이 있었음이 分明하였다,

2예의 感染血清(Progressive Aleutian Disease. P-AD)은 特徵的인 Poly Clonal Gammapathy와 Hypergammagloublinemia를 나타내는 것으로 보아 本病性이 상당히 進行된 狀態임을 알수 있었다.

CELLULOSE ACETATE ELECTROPHORESIS OF NORMAL AND AD INFECTED MINK



Ⅳ. 고 찰

(1) IAT와 CIEP結果에서 一致率이 낮은 이유로서 IAT는 非特異的인 検査 방법으로써 本病에 感染되지 않았으나 血中γ-Globulin 이 增加한 個体는 전부 陽性으로 나타난다. 또한 肝臟疾患의 경우 陽性으로 나올 가능성이 높다.

시술상 알콜이나 먼지등 또는 反応温度에 따라 反応이 一致하지 않으며 飼料의 종류나 給与

時間에 따른 차이가 認定될 가능성이 있다.

感染初期나 또는 不顯性感染時에는 血中 γ-Globulin이 增加되지 않으므로 IAT에서 음성으로 나타난다.

(2) CIEP는 特異的인 血清反応이기 때문에 感染 일주일 후면 血清γ-Globulin량의 過多를 막론하고 예외없이 발견된다. 그러므로 예외없이 淘汰해야 한다.

(3) 사진 1에서 보는 바와 같이 실제로 Pastel Mink (Non-Aleutian Genotype)는 Non Progressive Aleutian Disease로서 IAT에서는陰性이였으나 CIEP에서는 陽性으로 나타났다. 이 Mink는 血中 γ-Globulin이 정상 밍크의 것과 거의 갖기 때문에 당연히 IAT에서는 検索되지 않으며 이러한 不顯性 感染된 NPAD Mink 는 病理学的 또는 臨床적으로서는 정상이며 정상 수명을 유지할수 있으므로 계속 본병을 垂直또는 水平으로 他Mink에 伝染시키기 때문에 本病撲滅対策을 위해서는 이러한 NPAD Mink를 索出 除去해야 한다. 그리고 共히 CIEP 陽性이며 IAT 陽性인 個体(P-AD)는 병성의 進行이 심하기 때문에 繁殖時 流産하거나 産子数도 적을 뿐만 아니라, 털의 질도 나빠지고, 飼料効率도 떨어지며 보통 他病疾과 複合感染하여 廃死한다.

(4) 本病의 撲滅을 위해서는 다음사항에 유의해야 한다.

① CIEP 陽性 Mink를 전부 淘汰한다. (매년 2회 검사)

② 採血時 Clipper 및 가죽 장갑등의 消毒을 徹底히 한다.

③ 飼育場의 衛生管理를 엄수한다.

④ 剝皮후 Mink를 飼料로 이용해서는 않된다.

⑤ 種畜導入시 AD free Mink만을 導入할수 있도록 한다.

Ⅱ. 사 사

본 論文을 協助해 주신 家畜衛生研究所 안수환 박사님, 연암축산전문대학실험농장 権寬님, 그리고 밍크농장 이상만 기사님께 심심한 사의를 표합니다.

APPENDIX

1. 1 unit의 抗原은 交叉免疫電気泳動反応에서 特異抗体와 확실한 沈降反応을 보여 주는 최소량의 ADV D

2. Iodine, Potassiumiodide 및 증류수를 1 : 2 : 5의 비율로 溶解시킨 강한 Lugol's Solution을 사용하였다.

《References》

1. Hartsough, F.G. and Gorham, J.R. : Aleutian disease in mink. Natl. Fur News 28:10-11, 1956.
2. Gorham, J.R., Henson, J.R., Crawford, T.B. and Padgett, G.A. : The Epizootiology of Aleutian disease. Slow virus diseases of animals and man. Edited by R H. Kim-berlin, North Holland Research Monographs Frontiers of Biology Vol. 44 pp. 135-158, 1976.
3. Shahrabadi, M.S., Cho, H.J. and Marusyk, R.G. : Characterization of the protein and nucleic acid of Aleutian disease virus. J. Virol., 23:353-362, 1977.
4. Ingram, D.G. and Cho, H.J. : Aleutian disease in mink: Virology, immunology and pathogenesis. J. Rheumat., 1 :74-92, 1974.
5. Karstad, L. : Aleutian disease. A slowly progrogressive viral infection of mink. Current topics microbiol., Immunol. 40:1-21, 1967.
6. Gorham, J.R., Leader, R.W. and Henson, J.B. : The experimental transmission of a virus causing hypergammaglobulinemia in mink: Sources and mode of infection. J. Infect. Dis. 114:341-345, 1964.
7. Porter, D.D., Larsen, A.E. and Porter, H.G. : Reduced severity of lesions in mink infected transplacentally with Aleutian disease virus. J. Immunol., 119:872-876, 1977.
8. An, S.H. and Ingram, D.G. : Detection of inapparent Aleutian disease virus infection in mink. Am. J. Vet. Res., 38:1619-1624, 1977.
9. An, S.H. and Ingram, D.G. : Transmission of Aleutian disease from mink with inapparent infections. Am J. Vet. Res., 39:309-313, 1978.
10. Helmboldt, C.F. and Jungherr, E.L. : The pathology of Aleutian disease in mink. Am. J. Vet. Res., 10:212-222, 1958.
11. Henson, J.B., Gorham, J.R. and Leader R.W. : A field test for Aleutian disebse: Preliminary report. Nat. Fur New, 34:8, 9, 23, 25, 26., 1962.
12. Henson, J.B., Leader, R.W. and Gorham, J.R. : Hype-

rgammaglobulinemia in mink. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 107:919-920, 1961.
13. McGuire, T.C., Crawford, T.B., Henson, T.B. and Gorham, J.R. Aleutian disease of mink: Detection of large Quantities of complement fixing antibody to viral antigen. J. Immunol., 107:1481-1482, 1971.
14. Porter, D.D., Larsen, A.E. and Porter, H.G. The pathogenesis of Aleutian disease of mink. 1. In vivo viral replication and the host antibody response to viral antigen. J. Exp. Med., 130:575-589, 1969.
15. Cho, H.J. and Ingram, D.G. Antigen and antibody in Aleutian disease in mink. II. The reaction of antibody with the Aleutian disease agent using immunodiffusion and immunoelectroosmophoresis. Can. J. Comp. Med., 37:217-223. 1973.
16. Cho, H.J. and Ingram, D.G.: Antigen and antibody in Aleutian disease in mink. I. Precipitation reaction by agar- gel electrophoresis. J. Immunol., 108:555-557, 1972.
17. An, S.H.: Detection of antibody to Aleutian disease virus by passive haemagglutination. Korea. J. Virol., 10 :41-45, 1980.

Study on the Occurrence of Aleutian Mink Disease in Korea.

Won, Song Dae. D.V.M. MS.

Summary

The purpose of this study is to report occurrence of Aleutian Mink Disease rearing in Korea.

The methods of diagnosing Aleutian Mink Disease were IAT and CIEP, and the results obtained from both tests could be summarized as follow:

1. Diagnosing Aleutian Mink Disease by Iodine Agglutination Test (IAT), 77 heads (8.8 %) among total 880 minks tested were positive.
   While total 77 minks of IAT positive were classified according to strains, Pastel mink is 16.3%, Z-Black mink 11.9%, Standard Dark mink. 7.6% and Sapphire mink 3.7% respectively.
2. In order to diagnosing accurately the total 880 minks being checked by IAT, the CIEP, which is the specific serum response, was used.
   The result shows that 444 heads (50.5%) among total 880 minks were positive. Also, classifying the positive of total 444 minks according to the strains, Pastel mink is 77.0% Sapphire mink 68.7%, Standard Dark mink 42.9% and Z-Black 29.7%, respectively.
3. Comparing the results of CIEP and IAT, the agreement ratios exhibit 34.9 per cent of Aleutian Genotype and 57.3 per cent of Non-Aleutian Genotype. Therefore, the average mean of the agreement ratio is 53.2 per cent.
4. Taking Photo of serum r-globulin concentration by the Cellulose Acetate Electrophoresis (CAEP), the r-globulin bands of Non-progrssive Aleutian disease mink (NPAD) is similiar to that of normal serum. But Progressive Aleutian disease (P-AD) minks exhibit clearly the specific Poly clonal gammapathy and Hypergammagiobulinemia; that means Aleutian disease virus were developing markedly in the P-AD minks.
5. To make a conclusion of results mentioned above, we could believe that Aleutian Mink Disease have already been inhabited in Korea.