

설사증 羅患犬으로 부터 분리한 Canine Parvovirus의 성상에 관한 연구

최해연 · 정운선 · 전무형* · 박성국* · 민원기*
충북 가축위생시험소 북부지소
충남대학교 수의학과*

Biological and Physicochemical Properties of Canine Parvovirus Isolated from the Dogs with Diarrhea

Hae-Yeon Choi, Un-Sun Chung, Moo-Hyung Jun*, Seong-Kuk Park*, Won-Gi Min*
Northern Branch of Chung Buk Veterinary Service Laboratory, Department of Veterinary
Medicine, Chung Nam National University*

Abstract

From 1988 to 1989, 8 strains of canine parvovirus-2 (CPV-2) were isolated from the fecal specimens from the dogs that were clinically diagnosed as canine parvoviral enteritis in the veterinary hospitals located in the regions of Taejon and Chungbuk province. Studies on biological and physicochemical properties for the isolates were carried out.

The results obtained by experiments are summarized as follows.

1. Among 62 fecal samples collected from the dogs with enteric diseases, 24 (38.7%) showed the haemagglutinating activity against porcine erythrocyte, ranging from 16 to 16,384 of HA titers.

2. When 8 fecal specimens with high HA titer over 1,000 were inoculated into CRFX cells, intranuclear inclusion bodies were observed in all of eight specimens, of which three specimens showed cytoplasmic inclusions concurrently with the intranuclear inclusion bodies.

3. In study on species-specificity of haemagglutinating activity of the isolates, TJ-89-1 and TJ-89-2, it was found that the isolates revealed the highest haemagglutinating activity with porcine erythrocytes, showing the relatively lower haemagglutination titers with the erythrocytes from cat and rabbit. None of erythrocytes from other animals reacted with the isolates.

4. By the cross-haemagglutination inhibition test of the isolates with reference viruses and sera, the isolates were evidently identified as the strains of canine parvovirus-2.

5. In physicochemical property test, it was evident that the isolates were stable in lipid solvent, pH and heat treatment at 56°C for 30 min. and contain DNA genome.

6. When seven puppies were inoculated intraorally with the isolate at HA titer of 8,192, all of the puppies showed the symptoms of anorexia, vomiting, diarrhea and died at the 5th to 10th days post inoculation(pi). The fecal samples from all of the puppies revealed significantly high HA titers afterward the 5th days pi. Body temperature and the number of total leucocytes were slightly increased at the early stage of infection. but ex-

tremely decreased at the stage of collapse. HI titers of the sera started to increase at the 2nd to 3rd days pi reaching 512 to 1,024 at the 4th to 5th day pi.

Key words: canine parvovirus, enteritis, experimentally infected puppies.

서 론

Canine parvovirus (CPV)는 parvoviridae에 속하며^{1~5)} 일반적으로 18~26mm 크기의 single stranded DNA를 가지고^{1~6)} cubic symmetry 형태의 capsomers를 가지는 분자량이 $1.2\sim 1.8 \times 10^6$ dalton의 작은 바이러스로서 envelope가 없고 ether나 chloroform에 저항성⁷⁾이 있는 바이러스이다.

CPV는 1970년 Binn등⁸⁾에 의해 건강한 개의 분변에서 처음 분리되어 보고된 바 있으며, 그 후 1978년에는 Appel등⁹⁾ 및 Eugster¹⁰⁾에 의해 설사증 소견을 보이는 환경의 분변으로부터 분리된 바 있었다. 이 두 바이러스는 물리화학적 성상이 동일하나 항원성과 병원성이 다른 것으로 밝혀져 비병원성 바이러스인 전자를 CPV-1, 병원성이 있는 후자를 CPV-2로 명명하였다.¹⁾ CPV-2는 자견에서 병원성이 강하여 출혈성장염, 구토 및 설사를 일으키며^{11, 12)} 혈액학적으로는 심한 임파구감소증을 야기하고¹³⁾, 때로는 심근염을 일으키며¹⁴⁾ 높은 폐사율을 보이는 것으로 알려져 있다.⁴⁻¹⁴⁾

본 병은 1978년에 미국에서 처음 발생한 이후^{9, 10)} 1979년에 영국, 프랑스, 캐나다, 스위스, 호주, 뉴질랜드에서 보고된 바 있고^{5, 9, 10, 13, 14, 15)} 1980년에는 이탈리아, 벨기에, 독일, 스페인, 핀란드, 스웨덴, 노르웨이 등의 국가에서 보고된 바 있다.^{4, 5, 11, 12)} 아시아 지역에서는 1980년 일본에서 처음 보고 되었다.¹⁶⁾

국내에서는 1981년 5월부터 서울, 경기지역에서 구토, 설사 및 출혈성장염을 주증으로 하는 환경이 대량 발생하였고^{17~21)}, 1982년에는 한등¹⁷⁾이 본 병에 대한 임상병리학적 관찰소견을 보고하였고, 아울러 이등¹⁸⁾은 원인학적 연구를 수행하여 본 증이 canine parvovirus 감염증임을 처음 확인하였다. 그뒤 CPV감염증은 부산, 경남지역에도 발생하여 1984년에는

전국으로 확산되었음이 혈청역학적 조사에 의해 밝혀졌다.²²⁾ 1981년 본 병이 처음 국내에 발생된 후 외국으로부터 백신을 도입하여 사용하였고,^{23~27)} 이어서 국내에서도 백신개발에 성공하여^{28, 29)} 보급함으로써^{30, 31, 32)} CPV 감염증의 발생은 급격히 감소되었으나, 아직도 산발적으로 발생하여 본병은 국내 개 질병중 가장 피해를 많이주고 있으며,^{17~20, 22)} 특히 다수 집단사육하는 양견가의 경우 사양관리 및 백신접종이 미진할때 그 피해는 지대하다.³³⁾

국내분리 CPV-2주의 성상에 대한 연구는 이등¹⁸⁾이 1982년에 경기지역에서 발생한 환경의 분변에서 분리한 CPV에 대해 혈청학적 특성, 교차혈구응집저지반응 및 전자현미경적 시험을 수행한 바 있으며 1983년부터 1984년에 김과 유⁷⁾는 설사증 이환견으로부터 CPV를 분리하여 조직배양 증식성 및 혈구응집능에 대한 시험을 하여 이에 대한 특성을 보고한 바 있다.

그러나 CPV의 생물학적 및 물리화학적 특성과 병원성은 분리주에 따라 차이가 있기 때문에^{34~40)}, 국내에서 만연되고 있는 본병의 특성을 밝히고, 진단, 치료 및 예방대책을 더욱 효과적으로 확립하기 위해 야외 병원주에 대한 보다 광범위한 연구가 필요하며, 특히 국내 분리주의 자견에 대한 병원성상시험이 아직 수행된 바 없기 때문에 이에대한 연구가 요망되고 있는 실정이다.

본 논문에서는 1988년에서 1989년 사이에 대전 및 충북지역 동물병원에서 임상적으로 파보 바이러스 감염증으로 진단된 환경의 분변재료로부터 CPV-2의 분리를 시도함과 아울러 분리된 CPV-2에 대한 생물학적 및 물리화학적 성상과 자견에 대한 병원성상을 구명하고자 일련의 실험을 수행하여 얻어진 결과를 기술하였다.

재료 및 방법

1. 분변재료

대전과 충북 지역의 동물병원에서 임상적으로 파보바이러스 감염증으로 진단된 환견 및 시험접종 자견의 직장분변을 면봉으로 채취한 후 10ml의 Eagle's minimum essential medium (Gibco, USA, EMEM)이 든 스크류캡 시험관에 넣어 실험실로 옮긴 다음 3,000rpm으로 20분간 원심한 후 disposable syringe filter (0.2 μ , Nalgen company, USA)로 여과한 여액을 -20 $^{\circ}$ C에 저장하면서 공시하였다.

2. 세포배양

바이러스 분리 및 증식⁴¹⁾을 위하여 고양이 신장세포주인 Crandell feline kidney (CRFK) cell과 초대 고양이 신장세포 (PFK)를 사용하였다. 세포배양액은 EMEM에 우태아혈청 (Gibco, USA)을 실험목적에 따라 3~10%되게 가하고 penicillin (200IU/ml), streptomycin sulfate (200 μ g/ml), Kanamycin (20 μ g/ml) 및 fungizone (20 μ g/ml)을 첨가하여 사용하였다.

3. 공시 바이러스 및 혈청

Canine parvovirus-2주인 CPV-2-1, CPV-2-4 및 참조 양성혈청과 Feline panleucopenia virus 주인, FPLV-2 및 FPLV-3주를 가축위생연구소에서 분양받아 공시하였으며, 설사 이환견으로 부터 분리된 8주중 TJ-89-1, TJ-89-2 및 TJ-89-3주는 CRFK 및 PFK 세포에 배양하여 공시하였다.

4. 바이러스분리 및 역가측정

저장중인 분변 재료를 4~8시간 배양된 PFK, CRFK세포에 접종하여 3~4일간 배양한 후^{7, 34, 42)} 3회 동결 융해하고 3,000rpm으로 20

분간원심한 후 상층액을 채취하여 혈구응집시험(HA)^{37, 43)}을 실시하여 바이러스의 HA unit를 산출하였다. 또한 CPV역가를 측정하기 위해 cover slip을 넣은 Leighton tube에 CRFK세포를 배양하고 10진 단계 희석한 가검 재료를 접종하여 4~5일간 증식시킨 다음 hematoxylin eosin 염색을 하여 400 내지 1,000배 배율의 광학현미경으로 500~1,000개의 세포에 대한 CPV 특유의 핵내봉입체를 검사하여^{7, 34, 44)} TCID₅₀/ml를 산출하였다.

5. 물리화학적 성상검사

1) 지질용매

Chloroform에 대한 안정성⁴⁵⁾은 Hsiung (1980)⁴⁶⁾의 방법을 이용하였다. 약술하면 10^{5.0} TCID₅₀/ml농도의 virus sample 1ml를 넣은 시험관에 50 μ l의 chloroform을 첨가하여 실온에서 10분간 잘 흔든 다음 1,000g에서 5분간 원심하고 1ml의 상층액을 CRFK 세포에 접종하여 바이러스 역가를 측정하였다.

Ether에 대한 안정성은 위와 동일한 역가의 virus sample 1ml를 넣은 시험관에 200 μ l의 ethyl ether를 첨가하여 뚜껑을 닫고 4 $^{\circ}$ C에서 18시간 감각시킨 후 ether를 증발시킨 후 상기와 같은 방법으로 바이러스 역가를 측정하였다.

2) pH

EMEM에 1N HCl과 1N NaOH를 가하여 pH3.0 및 pH 8.0 용액을 만들고, 각 용액 20ml에 0.2ml의 virus sample을 가하고 22 $^{\circ}$ C에서 60분간 감각한 후, 배지의 pH를 7.2로 다시 조정 한 다음 상기와 같은 방법으로 바이러스 역가를 측정하였다.

3) 열처리

1.0ml의 virus sample을 56 $^{\circ}$ C, 70 $^{\circ}$ C 및 80 $^{\circ}$ C로 조정된 항온수조내에서 각각 30분씩 처리한 후 CRFK 세포에서 바이러스 역가를 측정하였다.

4) 핵산형

Azetaka 등(1981)¹⁶⁾ 및 Hsiung (1980)⁴⁶⁾의 방법을 이용하여 수행하였다. 약술하면 5-bromo-2-deoxyuridine (BUDR)을 EMEM에 $10^{-4}M$ 되게 가한후 이 배지로 CRFK를 배양하고 가검 바이러스를 4~5일간 증식시킨 뒤 바이러스 역가를 측정하였다.

6. 혈구응집시험(Haemagglutination test, HA)

Macartney 등 (1988)²⁷⁾ 및 Carmichael 등 (1980)³⁸⁾의 방법을 응용하여 수행하였다. 요약하면 microplate((Linbro, U bottom, 96 well)를 이용하여 sample virus 100 μ l를 인산완충식염액 (PBS, pH 6.8)⁴⁷⁾으로 2배 계단희석한 후 0.7% 돼지 적혈구 부유액을 동량 가하여 냉장고에서 2시간 반응시킨 후 응집능을 관찰하였다. 분리 바이러스의 HA능의 숙주 특이성 시험도 동일한 요령으로 수행하였다.

7. 혈구응집저지시험(Haemagglutination inhibition test, HI)

Macartney 등 (1988)^{27, 48)}의 방법에 준하여 56°C에서 30분간 비동화된 혈청 50 μ l을 microplate에서 PBS (pH 6.8)로 2배 계단희석한 후 동량의 바이러스 항원(4 HA unit)을 넣고 4°C 냉장고에서 1시간 감작시킨 후, 0.7% 돼지 적혈구 부유액을 100 μ l씩 가한 다음 4°C 냉장고 내에서 2시간 반응시킨 후 HI 역가를 측정하였다.

8. 자견접종시험

임상적으로 건강하며 HI 시험에서 항체 음성이며 분변재료에서 HA 능이 인정되지 아니한 40~50일령의 잡종자견 10두를 구입하여 1주일 동안 2회에 걸쳐 구충제를 투여하면서 건강상태를 재 확인한 후 3개군으로 나누어 다음과 같이 시험하였다. 시험기간 중 케이지 사육하면

서 시판 자견용 배합사료를 급여하였다.

접종용 바이러스로는 8,192HA가의 TJ-89-2주를 선택하여 I군의 4두에 대해서는 2.0ml, II군의 3두에 대해서는 1.0ml씩을 그리고 III군의 3두는 대조군으로서 2.0ml의 EMEM을 각각 경구로 투여하였다.

9. 간접 형광항체시험

Hirasawa 등 (1985)³⁴⁾ 및 Macartney 등 (1986)^{39, 48)} 방법을 응용하여 다음과 같이 수행하였다. 조직 및 기관의 동결절편조직 및 cover slip에 배양된 감염 세포를 아세톤에 10분간 고정하고 건조시킨 후 anti CPV canine serum⁴⁹⁾을 37°C에서 45분간 반응시킨 다음 PBS로 충분히 세척하고 anti-dog IgG FITC conjugate (Sigma : Lot No.28 F8355)로 37°C에서 45분간 감작시키고 PBS로 세척한 후 완충 글리세린으로 봉입한 후 형광 현미경으로 검정하였다.

10. 임상병리학적 검사

CPV 접종 자견에 대해 통상적인 방법^{14, 36)}에 준하여 임상증상 관찰 및 총 백혈구수 측정 시험을 수행하였으며 폐사건에 대해서는 병리학 적 부검도 실시하였다.

결 과

1. 설사분변의 혈구응집능

임상적으로 canine parvovirus 감염증으로 진단된 환견 62두의 설사분변 가검물에 대해 혈구응집능을 조사한 결과 잡종견은 25두중 12두에서, 진도견은 12두중 5두, 도사견은 12두중 3두, 포메라인종은 3두중 1두에서 10이상의 혈구응집가가 인정되었으며 그레이트데인종, 테리어종 및 치와와종에서는 혈구응집능이 관찰되지 않아 총 62두중 24두(38.7%)에서 유의한 혈구응집가가 인정되었다. HA 역가의 범위는 16내지 16,384였다(표 1).

Table 1. Hemagglutination test on the fecal samples from the dog with enteric disease

Breeds	Age(months)	No. of samples	No. of HA positive* (%)	Range of HA titer(mean)
Mix	2—8	25	12(23.1)	16-16,384(894)
Jindo	2—8	12	5(41.7)	16-8,192(2205)
Tosa	2-12	12	3(25.0)	128-1,024(469)
Pomeranian	6	3	1(33.3)	1,024(1,024)
Great dane	3	1	0	
Terrier	3	1	0	
Chihuahua	3	1	0	
Total		62	24(38.7)	16-1,6384(1,148)

* HA titers over 10 were recorded as positive

2. 세포변성효과
 출혈성 설사와 탈수등 보다 전형적인 개 파
 보바이러스 감염증 소견을 보이며 1,000이상의
 혈구응집가를 나타내는 8개의 분변 가검재료를
 선별하여 TJ-89-1, TJ-89-2, TJ-89-3, TJ-89-4,

Table 2. Cytopathology of the cultured cells inoculated with the fecal specimens with high haemagglutinating activity.

Designation of specimen	Clinical signs of patients	Titer of HA	Major cytopathological changes*
TJ-89-1	anorexia, dehydration, hemorrhagic watery diarrhea	16,384	intranuclear inclusion bodies
TJ-89-2	vomiting, dehydration, anorexia, watery diarrhea	8,192	intranuclear inclusion bodies
TJ-89-3	dehydration, hemorrhagic diarrhea, anorexia	8,192	intranuclear inclusion bodies
TJ-89-4	vomiting, anorexia, dehydration, hemorrhagic diarrhea, anorexia	2,048	intranuclear inclusion bodies
TJ-89-5	vomiting, anorexia, dehydration, hemorrhagic diarrhea	1,024	intranuclear inclusion bodies
TJ-89-6	vomiting, hemorrhagic diarrhea, anorexia	4,096	intranuclear and cytoplasmic inclusion bodies, syncytium cell formation
TJ-89-7	vomiting, dehydration, anorexia, watery diarrhea	1,024	cytoplasmic and intranuclear inclusion bodies
TJ-89-8	dehydration, anorexia, watery diarrhea	1,024	intranuclear and cytoplasmic inclusion bodies

* The specimens were inoculated into the cultured CRFK cells, and the cytopathological changes.

TJ-89-5, TJ-89-6, TJ-89-7 및 TJ-89-8라 명명하고 각각 CRFK 세포에 접종하여 세포변성효과를 관찰하였다(표 2). 그 결과 TJ-89-1, TJ-89-2, TJ-89-3, TJ-89-4 및 TJ-89-5는 핵내봉입체를 보였고(표 2, 그림 4), TJ-89-6, TJ-89-7 및 TJ-89-8은 핵내봉입체와 함께 세포질내봉입체도 관찰되었다. 또한 TJ-89-2 감염 CRFK 세포에 대한 간접 형광항제시험에서는 특이한 형광이 세포핵과 세포질내에서 관찰되었다(그림 6).

3. 혈구응집능의 특이성

CRFK 세포에 2대 계대 배양한 분리주 TJ-89-1 및 TJ-89-2에 대한 혈구응집능의 숙주 특이성을 시험하였다. 그 결과 표 3에서 나타난 바와 같이 두 주 공히 돼지 적혈구와 가장 높은 혈구응집가를 보여 512내지 1,024의 HA가를 보였고, 고양이 적혈구에 대해서는 64내지 256의 비교적 높은 HA가를 나타냈다. 토끼 적혈구와는 아주 약한 응집능이 인정되어 2내지 4의 HA가를 보였다. 그외에 공시한 염소, 개, 닭, 오리, 쥐, 마우스, 사람의 O형적혈구, 기니픽, 그리고 소의 적혈구에서는 혈구응집능이 인정되지 않았다.

Table 3. Haemagglutinating activity of the isolated canine parvoviruses to various mammalian erythrocytes & avian erythrocytes

Source of erythrocyte*	HA titer	
	TJ-89-1**	TJ-89-2**
pig	1,024	512
Goat	< 2	< 2
Cat	256	64
Dog	< 2	< 2
Chicken	< 2	< 2
Duck	< 2	< 2
Rat	< 2	< 2
Mouse	< 2	< 2
Human O	< 2	< 2
Guinea pig	< 2	< 2
Rabbit	4	2
Cattle	< 2	< 2

* Concentration of erythrocytes=0.7%

** The virus was passaged twice in CRFK cells.

4. 교차 혈구응집저지능

CPV 야외분리주 TJ-89-1, TJ-89-2 및 TJ-89-3주의 혈청학적 항원성상을 구명하기 위해 표준 CPV-2 주인 CPV-2-1 및 CPV-2-4주 그리고 feline panleucopenia virus 주인 FPLV-2 및 FP LV-3주와 표준 CPV-2 양성혈청과 음성혈청을 공시하여 교차 혈구응집저지 시험

을 하였다. 그 결과 표 4에서 요약된 바와 같이 CPV 야외분리주 3주를 포함한 모든 공시 바이러스는 표준 CPV-2 음성 혈청과는 혈구 응집 저지능이 없었으나, 양성 혈청과는 CPV-2-1 및 CPV-2-4주는 각각 5,120 및 2,560의 HI가를 보였고 FPLV-2 및 FPLV-3과는 공히 1,280의 역가를 보였으며 3주의 야외 분리주는 모두 5,120 및 2,560의 HI가를 각각 나타내었다.

Table 4. Cross haemagglutination inhibition reactions of the field isolates of canine parvovirus

Viruses	Reference sera			
	CPV-positive		CPV-negative	
	1	2	1	2
Reference				
CPV-2-1	5,120	2,560	<2	<2
CPV-2-4	5,120	2,560	<2	<2
FPLV-2	1,280	1,280	<2	<2
FPLV-3	1,280	1,280	<2	<2
Isolates*				
TJ-89-1	5,120	2,560	<2	<2
TJ-89-2	5,120	2,560	<2	<2
TJ-89-3	5,120	2,560	<2	<2

* The viruses were passaged twice in CRFK cells.

5. 물리 화학적 성상

CPV 야외 분리주 TJ-89-1의 핵산형 및 물리 화학적 성상을 검사하였다(표 5). 그 결과 TJ-89-1주는 DNA 합성 저지물질인 5-bromo-2-deoxy uridine (BUDR)을 처리 하였을 때 증식이 대조군 ($10^{5.0}$ TCID₅₀/ml)에 비하여 현저히 저지되어 DNA 핵산을 가진 virus로 인정되었다. 또한 분리주는 ether와 chloroform에 대해 안정하였고 pH 3.0과 pH 8.0처리에 대해서도 비교적 안정하여 바이러스 역가 손실이 인정되지 않았다. 열처리 시험에서 분리주는 56℃ 30분에서 안정하였으나 70℃ 30분이상 처리에는 불안정하여 역가 손실이 인정되었으며 80℃ 30분에서는 역가가 현저히 하락하여 $10^{1.0}$ TCID₅₀/ml로 나타났다.

6. 자견 접종시험

1) 임상병리학적 관찰

HA역가 8,192의 CPV분리주 TJ-89-2주를 2.0ml씩 경구접종한 I군(4두), 1.0ml씩 경구접종한 II군(3두)과 대조군이 III군(3두)에 대해 임상증세를 관찰한 바 접종 후 2일부터 모든 자견에서 공히 식욕부진과 설사증이 나타났으며(표

6), 시간이 경과함에 따라 수양성 설사, 탈수(그림 3) 및 운동실조 등의 주요 증상이 보였으며, II군의 7번 견에서는 구토 소견이 있었고, 혈액성 설사는 5번 견의 한 예에서는 볼 수 있었다(그림 3). 관찰결과 TJ-89-2주 접종견 7두 모두 심한 탈수증상과 빈사소견을 보이면서 접종후 5일에서 10일 사이에 폐사하였다(표 6).

체온은 I군 및 II군 공히 바이러스 접종 후 2일 내지 3일 사이에 약간 상승하여 38.4 ± 0.5 ℃였고 빈사기에는 급격히 하강하였으며 총 백혈구수는 접종후 2일 내지 4일간에는 다소 증가 추세를 보이다가 빈사기에는 감소하였다(그림 1, 그림 2).

폐사견의 부검소견에서는 공장과 회장에 출혈성 장염이 인정되었고(그림 5), 그외 타 장기 및 조직에서는 특이한 병변을 관찰할 수 없었다. 또한 병변 장 조직을 동결절편하여 간접형 광학체법으로 검사한 바 소장내의 병변 조직내에서 CPV의 특이 형광이 관찰되었다(그림 7).

2) 분변중 바이러스역가

분리주 TJ-89-2를 시험접종한 자견의 분변중 CPV를 검사하기 위해 분변의 HA가를 시험한 바 I군에서는 4일부터 HA가 인정되어 6일 내지 7일 사이에 최고치에 달하였으며 2번 견은 8,192에 달하였다. II군에서는 2일부터 분변

Table 5. Physicochemical properties of the isolated canine parvovirus

Treatments	Virus titer*
Nucleic acid type	
BUDR(10^{-4} M) treated	<1.0
Control	5.0
Lipid solvents	
20% ether, 4°C, 18hrs.	4.5
5% chloroform, 4°C, 10min.	5.0
Control	5.0
pH stability	
pH 3.0 22°C, 60min.	5.0
pH 8.0 22°C, 60min.	5.0
Control	5.0
Heat stability	
56°C, 30min.	5.0
70°C, 30min.	4.5
80°C, 30min.	1.0
Control	5.0

* Numbers represents the titer of \log_{10} TCID₅₀ / ml.

The virus strain, TJ-89-1 was used for tests.

에 HA능이 인정되기 시작하여 최고 65,536에 달하였으며 모든 접종견은 폐사직전 분변에서 가장 높은 HA가가 인정 되었다. 대조군의 분변에서는 전 시험 기간중 HA능이 관찰되지 않았다. 접종 자견 분변의 HA능은 개체에 따라 차이가 있었다. 즉 I군의 4번 자견은 비교적 낮은 64HA가를 보인 후 폐사한 반면 II군의 5번견은 65,536HA가를 보인후 폐사하였다(표 7).

3) 혈청중 HI 항체가

분리주 TJ-89-2의 실험접종군 I 및 II의 항체형성 수준을 HI시험으로 검사한 바, I군은 접종 후 3일에 급증하여 16내지 256이었고, 이어서 5내지 6일에 최고치에 달하여 512내지 1,024였다(그림 1). 반면에 II군은 접종 후 3일내지 4일 사이에 급증하여 4일에는 16내지 512였

고, 6일 이후에는 512내지 1,024에 도달하였다(그림 2).

고 찰

설사분변의 혈구응집능 결과(표 1)는 이등¹⁸⁾이 보고한 15두중 10두(66.7%) 그리고 김과 유⁷⁾가 보고한 25두중 20두(80%)의 분변이 혈구응집능을 보였다는 보고와는 차이가 있었으며, 혈구응집역가는 이등¹⁸⁾이 80내지 40,960, 김과 유⁷⁾는 80내지 20,480이었다고 기술하여 차이가 있는 것으로 인정되었다. 이 차이는 원인 바이러스의 성장에 연유되었다기 보다는 진료차 내원한 환경의 병증의 정도 및 분변중의 바이러스농도와 밀접한 연관성이 있으며 또한 혈구응집반응 술식 간에도 약간의 차이가 야기될 수

Table 6. Major clinical signs of the puppies experimentally infected with canine parvovirus isolates, TJ-89-2

Groups	No of dogs	Dosage of virus inoculated*	Clinical signs	Days after inoculation											
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
I	1	2.0ml	D	-	+	+	⊕	⊕	⊕	‡					
			A	-	-	-	-	+	+	‡					
			V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	2.0ml	D	-	-	-	-	⊕	⊕	⊕	‡				
			A	-	-	-	-	-	-	+	‡				
			V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	2.0ml	D	-	-	-	-	+	+	⊕	⊕	‡			
			A	-	-	-	-	-	-	-	+	‡			
			V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	2.0ml	D	-	+	+	+								
			A	-	-	-	-	‡							
			V	-	-	-	-	‡							
5	1.0ml	D	-	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	‡					
		A	-	-	-	+	+	+	‡						
		V	-	-	-	-	-	-	-	‡					
II	6	1.0ml	D	-	+	+	+	+	‡						
			A	-	-	-	-	+	‡						
			V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	1.0ml	D	-	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	‡	
			A	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	‡
			V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	‡
III (Control)	8	—	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	9	—	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
10	—	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

* HA titer of virus = 8192, D=Diarrhea, A=Anorexia, V=Vomiting

⊕ : Diarrhea and dehydration, ** Hemorrhagic diarrhea

‡ : The day of death

Table 7. Hemagglutinating activity of the feces of the puppies experimentally infected with the canine parvovirus isolates, TJ-89-2

Groups	No of dogs	Dosage of virus inoculated	Days after inoculation														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
I	1	2.0ml	<2	<2	<2	<2	256	4096	D								
	2	2.0ml	<2	<2	<2	<2	32	4096	8192	D							
	3	2.0ml	<2	<2	<2	<2	<2	256	4096	4096	D						
	4	2.0ml	<2	<2	<2	64	D										
II	5	1.0ml	<2	16	16	256	65536	65536	D								
	6	1.0ml	<2	<2	<2	32	1028	D									
	7	1.0ml	<2	<2	<2	<2	<2	16	2048	16384	D						
III (Control)	8	-	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
	9	-	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
	10	-	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2

The numbers represent HA titers with 0.7% porcine erythrocyte

D=died

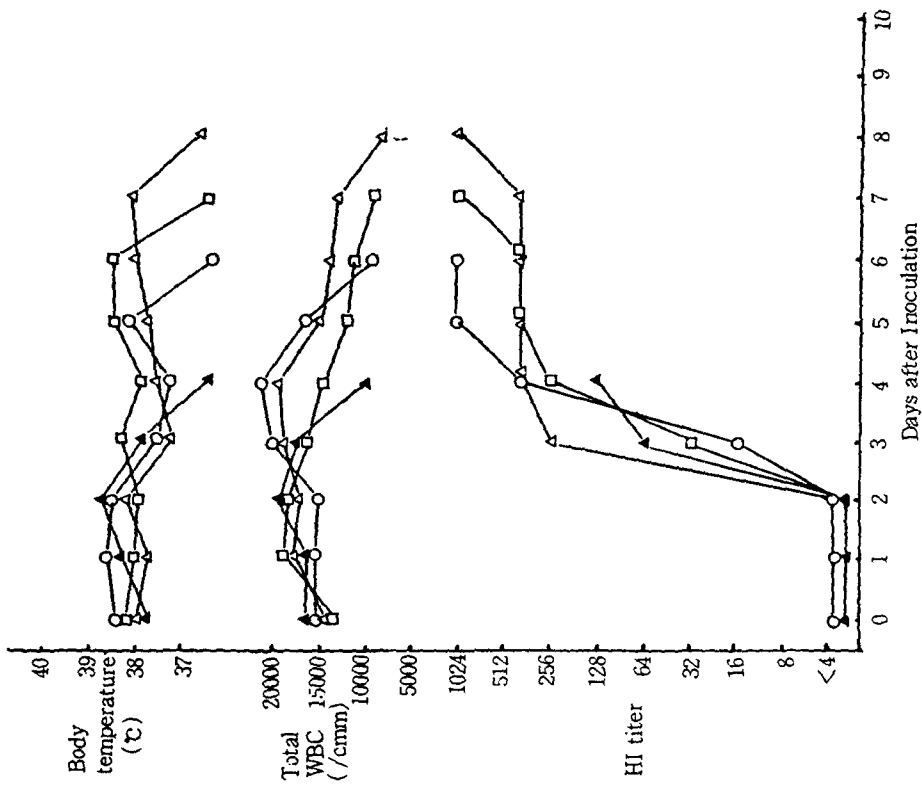


Fig 1. Clinicopathological and serological response of four puppies in group I experimentally infected with 2.0ml of canine parvovirus isolates, TJ-89-2.

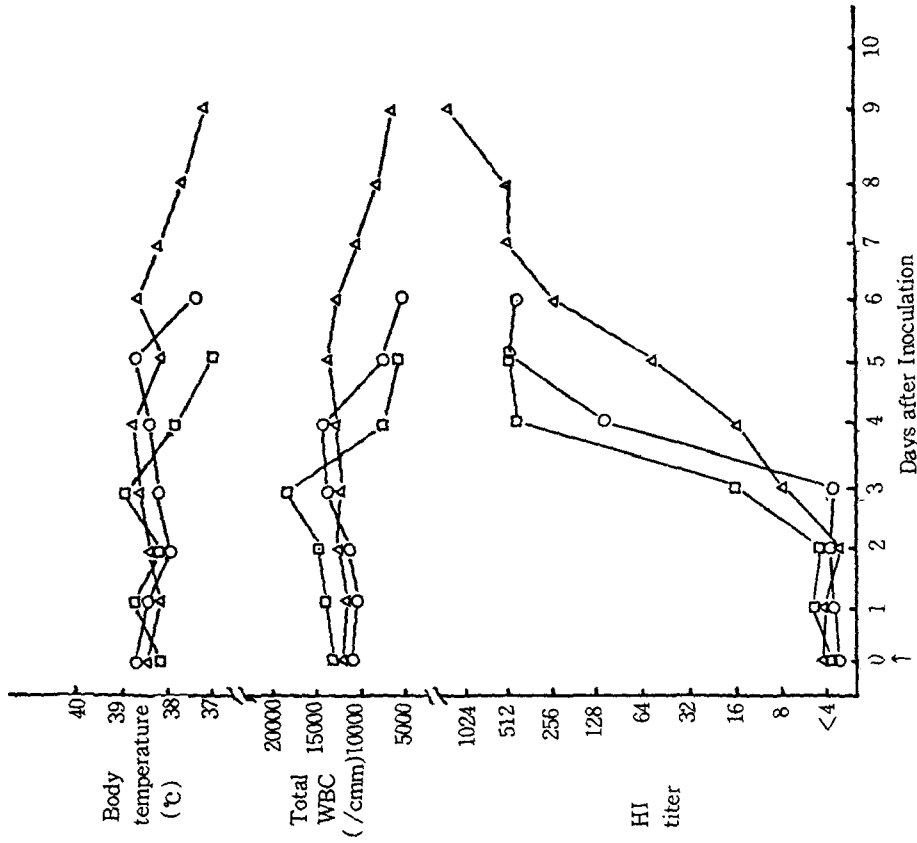


Fig 2. Clinicopathological and serological response of three puppies in group II experimentally infected with 1.0ml of canine parvovirus isolates, TJ-89-2.

있다고 생각되었다.

CPV는 일반적으로 분열중인 세포에 쉽게 감염 증식하며 halo를 가진 핵내봉 입체를 형성하는 특성(그림 4)이 있으며 이와같은 세포변성 효과(Cytopathic effects)는 혈구응집능과 더불어 CPV분리 및 동정에서 중요한 특성으로 간주되고 있다.^{3, 7, 14, 37, 38)} 본 시험에 공시한 8개의 분변 가검물은 CRFK에서 모두 핵내봉 입체를 형성하여 가검체료 중에 CPV가 포함되어 있음이 증명되었다(표 2). 그러나 이 중에도 TJ-89-6, TJ-89-7 및 TJ-89-8에서는 핵내봉 입체와 더불어 세포질내봉입체가 관찰되어 CPV와 더불어 canine distemper virus가 혼합 감염된 것으로 추정되었다. 감염세포에 대한 형광항체시험 결과는 Hirasawa 등³⁴⁾ 및 Macartney⁴⁸⁾의 보고와 유사하게 초기에는 핵내에서 CPV항원이 주로 관찰되었고 시간이 경과함에 따라 세포질내에서 높은 농도의 CPV 항원이 인정되어서 분리주의 세포내 증식과정을 구명하는데 좋은 자료가 된다고 사료되었다.

혈구응집능의 성적은 Carmichael 등,³⁸⁾ Goto등⁴⁴⁾ 김과 유⁷⁾ 및 최등²²⁾의 시험성과 비교해 볼 때 약간의 차이가 있었다. 즉 Carmichael등³⁸⁾은 CPV와 돼지 혈구와의 응집역가가 1,024일 때 고양이 혈구와의 응집역가는 8이었고, Goto등⁴⁴⁾은 돼지에서 5,120일때 고양이에서 640이었다고 보고하였다. 또한 국내에서 김과 유⁷⁾는 돼지 혈구에서 512일 때 고양이는 4이었고, 최등²²⁾은 돼지 혈구에서 256일 때 고양이가 혈구와는 5이하였다고 보고하였다. 본 시험성적(표 3)에서는 돼지 적혈구에 대한 응집역가가 1,024일때 고양이 혈구와의 응집역가가 256이어서 Goto⁴⁴⁾ 등의 성적과는 거의 일치하였으나 Carmichael등,³⁸⁾ 김과 유⁷⁾ 및 최등²²⁾의 성적과는 약간의 차이가 있었다. 이와같은 차이는 CPV독주간의 혈구응집 단백질^{50, 51)}의 차이에 기인된 것이라 생각되며, 본 시험에 공시한 2주의 CPV 분리주는 돼지 및 고양이 적혈구에 대해 응집능이 있을 뿐만 아니라 특이하게 토끼 적혈구에 대한 응집능도 관찰되었다.

교차 혈구응집저지시험 결과(표 4) 야외분리

주 TJ-89-1, TJ-82 및 TJ-89-3은 표준 CPV-2로 공시한 CPV-2-1 및 CPV-2-4주와 동일한 항원 성상을 가지고 있으며, 아울러 FPLV와도 공통 항원성이 있다는 사실이⁵²⁻⁵⁵⁾ 혈청학적으로 증명되었다. Gillespie와 Timony¹⁾는 CPV-1과 CPV-2는 물리화학적 성상은 같으나 항원성상이 다르며 CPV-2의 항원성상은 FPLV와 공통점이 많다고 하였으며, 이와같은 사실은 Appel 등⁹⁾의 시험에서도 확인된 바 있다. 또한 Goto 등⁴⁴⁾은 CPV와 FPLV는 물리화학적 성상은 동일하며 생물학적 성상에는 차이가 있다고 보고하였다. 본 혈청학적 시험 결과 분리주는 표준 CPV-2와 항원성이 일치하고 FPLV와 약 50%의 공통항원성상을 가진 CPV-2 바이러스주임이 확인되었다.

물리화학적 성상의 시험 결과(표 5)는 Gillespie와 Timony¹⁾가 기술한 CPV의 물리화학적 특성과 매우 일치하였다. 또한 국내 분리주에 대해 보고한 김과 유⁷⁾의 성적 중 Lipid Solvents, pH 및 열처리 성적과 매우 유사하였으나 이들의 성적에는 바이러스 역가의 양적 표현과 DNA 핵산에 대한 시험결과가 없어서 비교가 어려웠다. 한편 일본에서 분리된 CPV주에 대해 보고한 Goto등⁴⁴⁾의 성적과 본 시험성적과는 매우 유사하였으나, 국내 분리주에 대한 virus particle 측정시험을 수행하지 않아서 이에 대한 직접비교는 어려웠다.

자견에 대한 인공감염시 Goto등⁴⁴⁾은 일본에서 분리한 $10^{6.0}$ TCID₅₀/ml 역가의 CPV-2를 1ml 접종한 바 8두중 1두가(12.5%) 폐사하였고, Macartney 등³⁶⁾은 영국에서 분리한 1.3×10^5 HA역가의 CPV-2ml를 시험감염시킨 14두의 자견중 3두(21.4%)가 폐사 하였다고 보고한 바 있었다. 이와같은 자견 접종시험 결과는 CPV의 병원성 뿐만 아니라 접종한 바이러스량, 접종자견의 품종, 연령 및 면역상태, 그리고 사육 환경과도 밀접한 연관성이 있어서 시험결과를 직접 비교하기는 곤란한 점이 있다. 그러나 본 시험에서 8.192 HA역가의 국내 분리 CPV-2 주(TJ-89-2)를 1ml 내지 2ml 접종한 결과(표6) 심한 장염 소견을 보이면서 전 두수가 폐사하였다는 사실은 국내 개 파보바이러스

감염증의 병인기전을 구명하는데 매우 중요한 사실로 사료되었다.

분변중 바이러스역가의 개체 차이(표7)는 Macartney등^{27, 39)} 및, Carmichael 등³⁸⁾이 보고한 바는 있으나 그 기전에 대해서는 아직 불명하다. 그러나 대개 급성 폐사예에서는 분변의 HA가가 낮고 다소 지속적이며 증세가 심한 예에서는 분변의 HA가가 높게 나타났다. 또한 폐사한 2번 자건의 부위별 장 내용물에 대한 혈구응집능을 검사하였던 바 회장과 맹장에서 8,192, 결장에서 2,048 그리고 직장에서 8,192의 HA역가를 보여서 장 내용물과 분변의 HA역가는 비슷한 수준이었다.

혈청중 HI 항체 형성은 2.0ml의 CPV를 접종한 I군이 1.0ml의 CPV를 접종한 II군보다 빠른 경향을 보였다(그림 1, 그림 2). Carman과 Povey¹³⁾은 접종 후 3일에 급증하여 8내지 12이었고 8내지 9일에 1,536내지 3,072에 도달하였다고 보고하였고, Azetaka등¹⁶⁾은 접종 후 3일부터 급증하여 5일에 722에 도달한다고 보고한 바 있어서 본 시험에서 얻어진 항체형성 및 최고 항체 도달시기와 비슷하였다. 그리고 급성폐사 예에서는 HI가 낮은 반면에 다소 지속적인 증세를 나타내는 예에서는 HI가가 높게 나타난다는 결과는 서로 일치하였다.

감염 자건의 체온과 총 백혈구수는 개체별로 변화가 심하여 비교가 곤란하였으나 일반적인 성적으로 볼 때 Carman과 Povey¹³⁾ 및 Azetaka 등¹⁶⁾은 바이러스 접종후 체온이 초기에 상승하나 접종 5일 이후에 하강된다고 보고한 바 있어서 이와같은 성적은 본 시험에서 얻어진 체온상승 및 하강의 시기와 비슷하였다. 또한 Carman과 Povey¹³⁾는 총 백혈구수가 바이러스 접종 후 백혈구수가 계속 감소하다가 접종 5일 이후에 증가한다고 보고하여 다소 상이한 결과를 보였으나 이는 CPV 감염에 따른 장 점막상피세포의 탈락과 2차 세균감염에 의한 장염 발생으로 백혈구수가 증가한 것으로 사료되었다.

결 론

1988년에는 1989년까지 大田 및 忠北지역 동물병원에서 임상적으로 파보바이러스 감염증으로 진단된 환경의 분변으로 부터 Canine parvovirus (CPV-2)를 수 주 분리하였고, 또한 분리된 CPV-2에 대한 생물학적 및 물리화학적 성상과 자건에 대한 병원성 시험을 수행한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 장염 이환건으로 부터 수집한 62두의 분변 가검물 중 24두(38.7%)가 돼지적혈구에 혈구응집능이 있었으며 HA역가는 16에서부터 16,384이었다.

2. 1,000이상의 높은 HA역가를 보인 8개의 분변 가검물을 CRFK 세포에 접종하였던 바 5개는 핵내봉입체만 형성하였고 나머지 3개의 가검물에서는 핵내봉입체와 더불어 세포질내 봉입체도 관찰되었다.

3. 분리주 TJ-89-1 및 TJ-89-2의 각종 동물적혈구에 대한 혈구응집능을 시험하여 본 결과 돼지적혈구에서 가장 높은 혈구응집능이 나타났고, 고양이와 토끼 적혈구에 대해서도 혈구응집능이 인정되었다.

4. 분리주 TJ-89-1, TJ-89-2 및 TJ-89-3을 CPV-2 표준양성혈청, 음성혈청 및 표준 CPV-2 바이러스로 교차 혈구응집저지시험을 수행한 결과 분리주는 CPV-2임이 확인 되었다.

5. 물리화학적 성상검사에서 분리주는 lipid solvents, pH 및 56°C 30분간 열처리에 비교적 안정하였고, DNA핵산을 가진 바이러스임이 입증되었다.

6. 8,192 HA역가를 가진 분리주 TJ-89-2를 자건에 경구로 인공접종한 결과 접종자건은 식욕부진, 구토 및 설사 증세를 보였으며, 접종 후 5~10일에 모두 폐사하였다. 시험접종된 자건의 분변에서 접종후 5일부터 높은 HA역가의 CPV가 배설되었으며 체온과 총 백혈구수는 감염초기에 일시적으로 증가하였다가 빈사기에 급격히 떨어졌다. 감염자건 혈청의 HI역가는 접종후 2~3일째부터 증가하기 시작하여 4~5일에는 512~1,024에 도달하였다.

Fig. 3. Major clinical signs observed in the puppies experimentally infected with TJ-89-2 strain of CPV on the 4th to 6th days post inoculation.

A : Anorexia, watery diarrhea and vomiting observed on the 4th day p. i.

B : Dehydration on one day before death.

Fig. 4. Cytopathological changes of CRFK cells infected with the CPV isolate, TJ-89-2.

The degenerating cells and intranuclear inclusion bodies (arrows) are shown. Hematoxylin and eosin stained. X 1,000 A&B : Early stage. C : Late stage.

Fig. 5. Gross findings of the puppies died at 5 (A) and 7 (B) days post inoculation of the CPV isolate, TJ-89-2.

Severe congestion and haemorrhages (arrows) are observed in the ileums of small intestine.

Fig. 6. Immunofluorescence patterns of the CRFK cell infected with TJ-89-2 strain.

The specimen was reacted indirectly with CPV-polyclonal antibody and anti-dog IgG FITC conjugate.

Specific fluorescens are observed in the nucleus and cytoplasm of the infected cells.

A : X 400. B, C : X 200.

Fig. 7. Immunofluorescence patterns of the small intestine from the puppies died following experimental inoculation of TJ-89-2 strain.

The specimen was cryostated and reacted indirectly with CPV-polyclonal antibody and anti-dog IgG FITC conjugate. X 200.

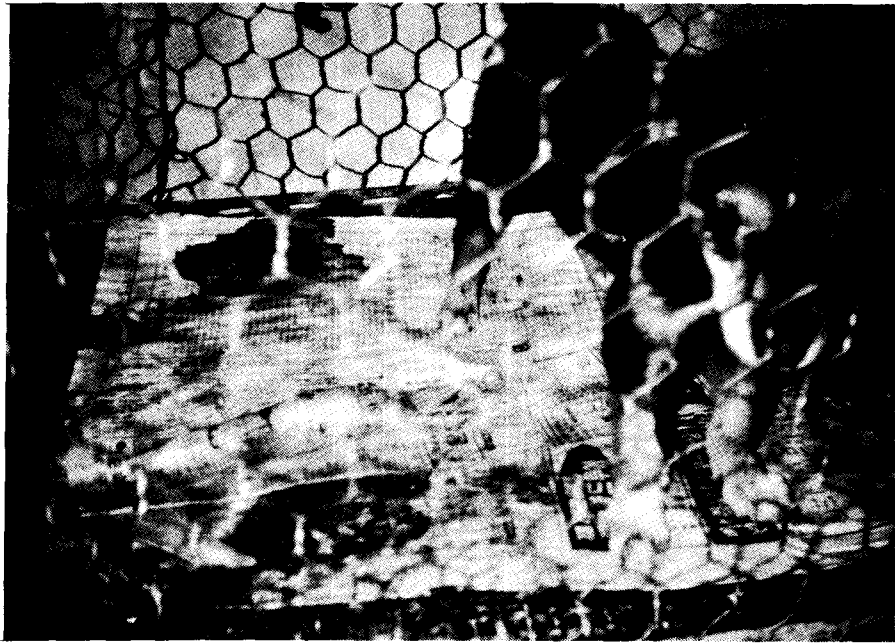


Fig. 3.

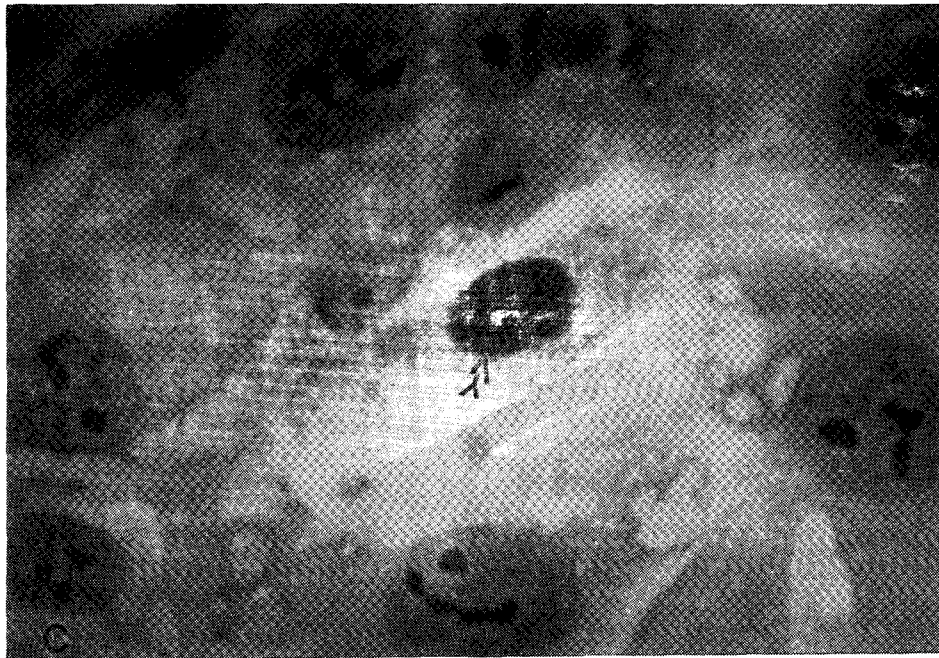
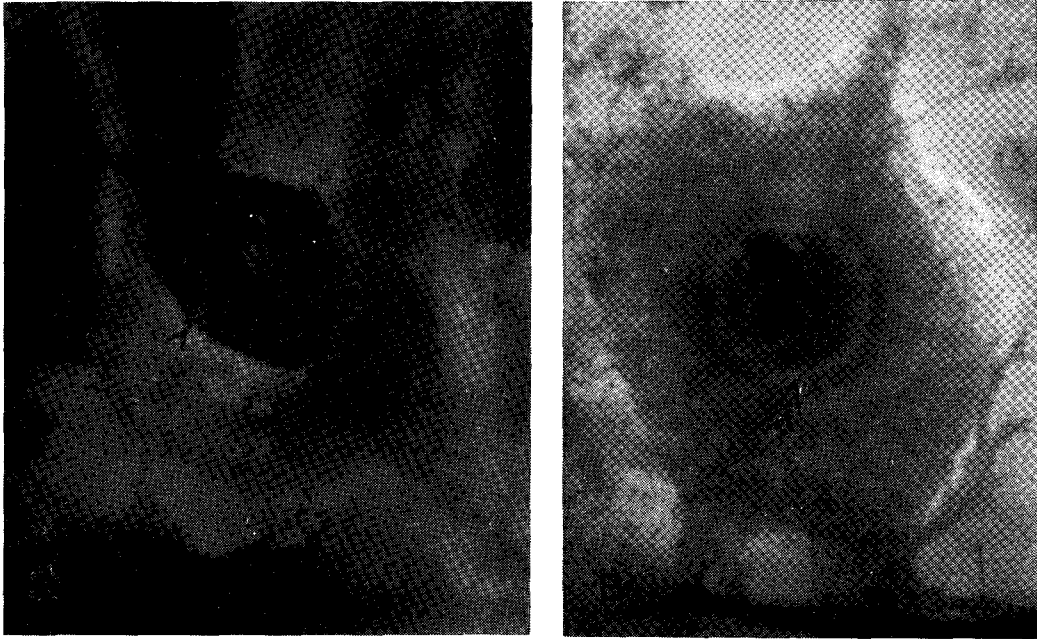


Fig. 4.

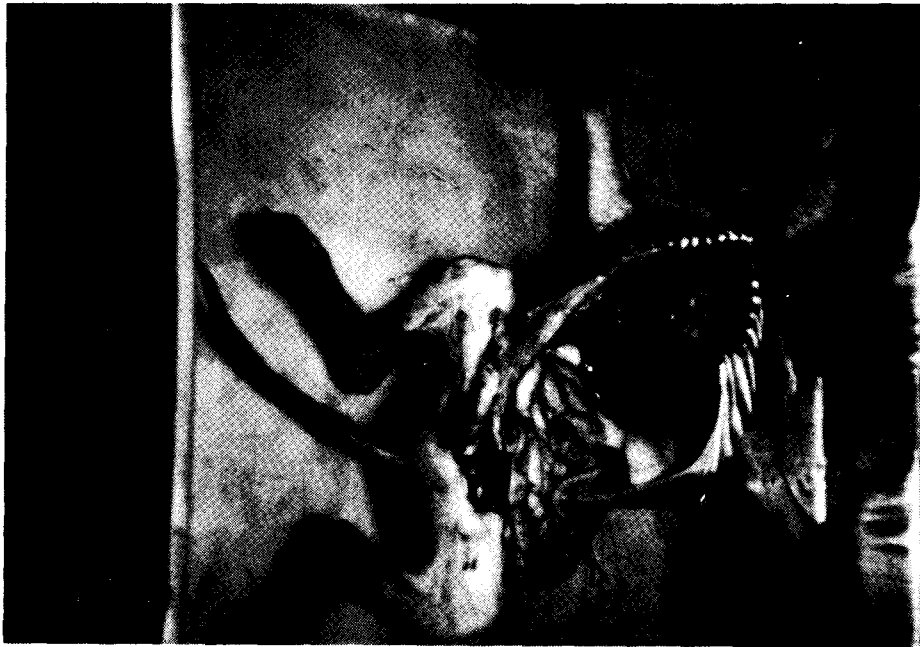
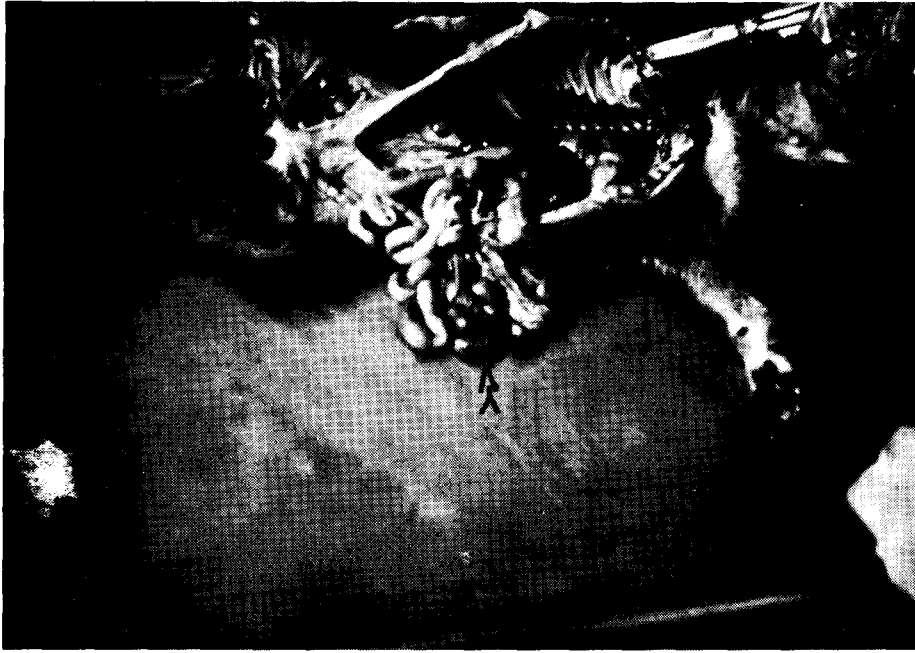


Fig. 5.

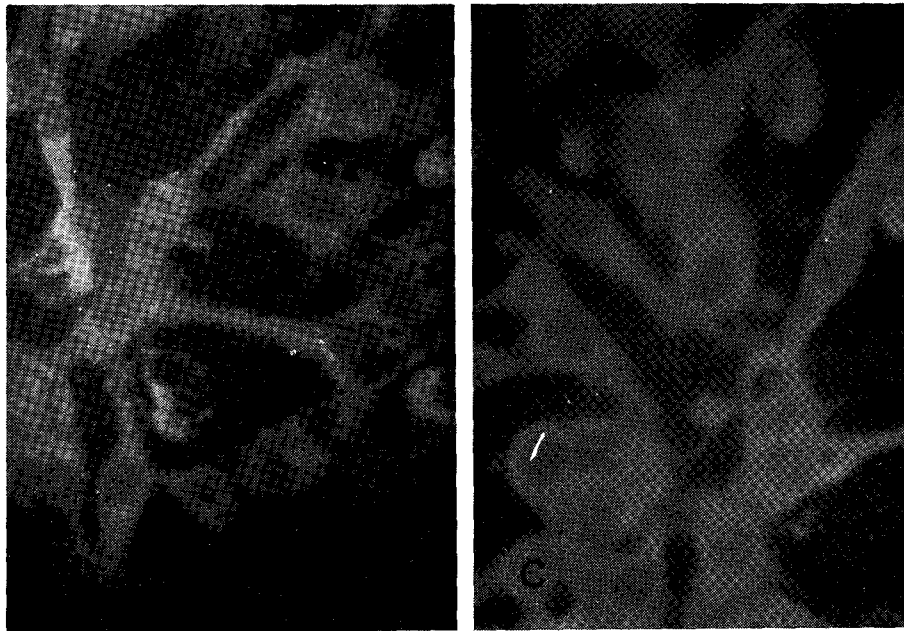
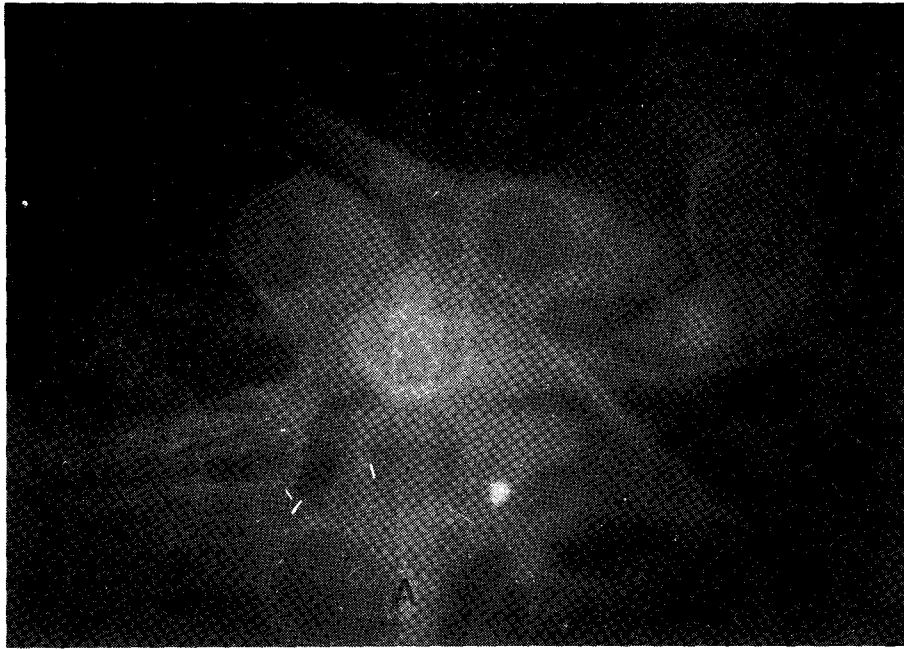


Fig. 6.

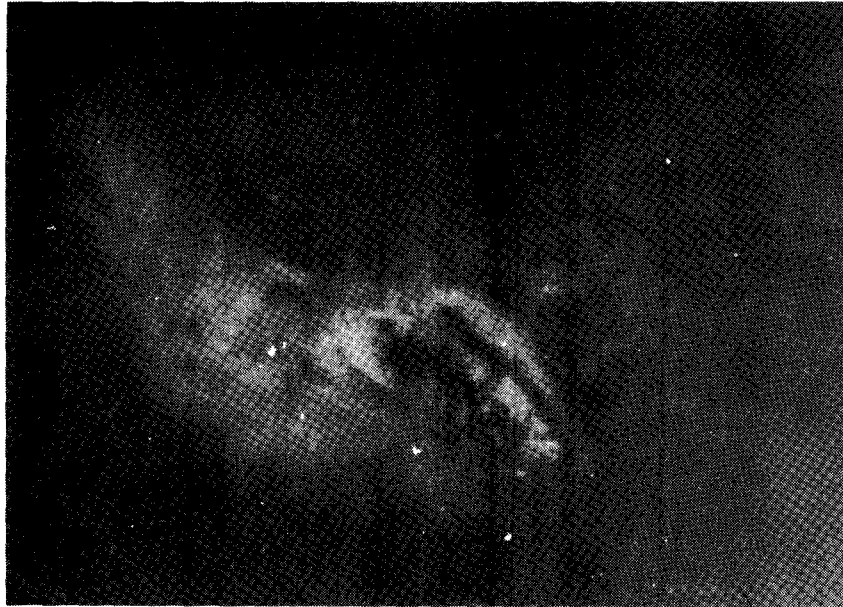


Fig. 7.

참고문헌

1. Gillespie JH, Timony JF. 1989. The parvoviridae in Hagan and Bruner's infectious diseases of domestic animals. Cornell Univ pre USA, 7th ed: 511~514.
2. Buxton A, Fraser G. 1977. In animal microbiology, Blackwell scientific publications LTD, UK.
3. Cotomore SF, Tattersall P. 1985. The autonomously replicating parvovirus of vertebrates. Yale Univ. Lab. USA., 23:91~97.
4. McCandlish IAP, Thompson H, Fisher EW, et al. 1981. Canine parvovirus infection. Am J Small Anima Clinic: 5~15.
5. Chappuis G, Duret C. 1979. Canine parvovirus infection. Vet Dep Ina Fra 1~16.
6. Kenneth IB, Mark AL. 1987. Parvovirus gene regulation. Cornell Univ Med coll, 68: 601~614
7. 김태종, 류영수. 1988. 개 파보바이러스의 조직배양액 종식성 및 혈구응집능에 관한 연구. 건국대학교 축산과학연구소, 13: 1~7.
8. Binn LN, Lozar EC, Eddy GA, et al. 1970. Recovery and characterization of a minute virus of canine. Inf Imm, 1: 503.
9. Appel MJG, Scott FW, Carmichael LE. 1979. Isolation and immunization studies of a canine parvo-like virus from dog with haemorrhagic enteritis. Am J Vet Res, 42(5): 1665~1667.
10. Eugster AK. 1980. Studies on canine parvovirus infection. Development of an inactivated vaccine. Am J Vet Res, 41 (12): 2020~2024.
11. Pollock RVH, Carmichael LE. 1981. Canine parvovirus. Gaines Dog Res

- USA: 1~7.
12. Meunier PC. 1981. Canine parvovirus in a commercial kennel epidemiologic and pathologic finding. *Cornell Vet*, 71: 96~110.
 13. Carman PS, Povey RC. 1985. pathogenesis of canine parvovirus-2 in dogs. *Hematology, serology and virus recovery. Res Vet Sci*, 38: 134~140.
 14. Hayes MA, Russel RG, Babiuk LA. 1979. Sudden death in young dogs with myocardites caused by parvovirus. *Am J Vet Med*, 174(11): 1197~1203.
 15. MaCandlish IAP, Thompson H, cornwell HJC, et al. 1979. Isolation of a parvovirus from dogs in Britain. *Vet Rec*: 167~168.
 16. Azetaka M, Hirasawa T, Konishi SI, et al. 1981. Studies on canine parvovirus isolation, experimental infection and serologic survey. *Jpn Vet Sci*, 43: 243~255.
 17. 한홍률, 황의경, 유규언 등. 1982. 개의 바이러스성 장염의 국내 발생에 보고. *대한수의학회지*, 22(2): 167~170.
 18. 이영옥, 최대영, 박봉균 등. 1982. 개 파보바이러스성 장염의 국내 발생: 대한수의학회지. 22(2): 171~174.
 19. 이영옥, 모인필, 1984. 개 파보바이러스 병의 발생 및 예방 : 대한수의학회지. 20(5): 271~278
 20. 김지인. 1984. 한국에서의 개 파보바이러스 장염의 수혈치료에 대한 임상적 고찰. *대한수의학회지*, 20(10): 622~630.
 21. 윤여성. 1981. 한배 새끼 강아지에서 보인 소화기형과 심장형의 파보바 이러스 감염증. *서울시수의학회지*, 81.
 22. 최대형, 류영수, 권창희 등. 1986. 개의 파보바이러스성 감염증의 발생과 항체분포을 조사. *농사시험연구논문집*, 28(2): 193~199.
 23. Carmichael LE, Joubert JC, Pollock RVH. 1983. A modified live canine parvovirus vaccine. II. Immune response, *Cornell Vet*, 73: 13~29.
 24. Bass EP, Gill MA, Bookanhauor WE. 1981. An inactivated canine origine vaccine represents the states of the art. *Vaccination alternatives for canine parvovirus disease. Norden News*: 7~10.
 25. 한태우. 1981. 개 파보바이러스병 예방주사. *대한수의학회지*, 17(6): 67~69.
 26. Gordon JC, Rogers WA. 1982. Field evaluation of a canine parvovirus vaccination program using feline origin modified live virus vaccine. *Vet Rec*, 180(12): 1429~1431.
 27. Macartney L, Thompson H, MaCandlish IAP, et al. 1988. Canine parvovirus. Interaction between passive immunity and virulent challenge. *Vet Rec*, 122: 573~576
 28. 이영옥, 허영. 1986. 개코로나 바이러스 감염증과 개 파보바이러스 감염증의 감별진단과 치료예방. *대한수의학회지*, 353~356.
 29. 한태우. 1981. 최근 해외에서 발생하고 있는 개 파보바이러스성 장염. *서울시수의학회지*, 25~28.
 30. Thompson H, MaCandlish IAP, Cornwell HJC, et al. 1988. Studes of parvovirus vaccination in the dog : The performance of live attenuated feline parvovirus vaccines. *Vet Rec*, 122: 378~385.
 31. Wierup M, Olson P, Hedhammar A, et al. 1982. Evaluation of a killed feline panleukopenia virus vaccine agianst canine parvoviral enteritis in dog. *AM J Vet Res*, 143(12): 2183~2186.
 32. Pollock RVH, Carmichael LE. 1982. Maternally derived immunity to canine parvovirus infection : Transfer, decline, and interference with vaccination. *Am J*

- Vet Res, 180(1): 37~42.
33. Mcguire SJ, Castro AE, Stair EL, et al. 1980. Comparison of the methods used in a diagnostic laboratory for the detection of canine parvovirus in dogs. Oklahoma Univ, 36.
 34. Hirasawa T, Tsujimura N, Konishi SI. 1985. Multiplication of canine parvovirus in CRFK cells. Jpn J Vet Sci, 47(1): 89~99.
 35. Carman PS, Povey RC. 1985. pathogenesis of canine parvovirus 2 in dogs. Histopathology and antigen identification in tissues. Res Vet Sci, 38: 141~150.
 36. Macarthey L, MaCandlish IAP, Thomson H, et al. 1984. Canine parvovirus enteritis 1. Clinical haematopathological and pathological features of experimental infection. Vet Rec, 115: 201~210.
 37. Mochizuki M, Hida S, Hsuan SW, et al. 1984. Fecal examinations for diagnosis of canine parvovirus infectivity. Jpn J Vet Sci, 46(4): 587~592.
 38. Carmichael LE, Joubert JC, Pollok RVH. 1980. Hemagglutination by canine parvovirus. Serologic studies and diagnostic application. Am J Vet Res, 41(5): 784~791.
 39. Macartney L, McCandlish IAP, Thompson H, et al. 1984. Canine parvovirus enteritis 2. pathogenesis. Vet Rec, 115: 453~460.
 40. Lenghaus C, Studdert MJ. 1982. Generalized parvovirus disease in neonatal pups. Am J Vet Res, 181(1): 41~45.
 41. Martin HT. 1980. Tissue culture and virus. Technical methods for the isolation, Vet Invest: 1~18.
 42. Hirasawa T, Hayashi T, Konishi SI. 1987. Electron microscopy of CRFK cells infected with canine parvovirus. Jpn J Ver Sci, 49(5): 765~777.
 43. Bass EP, Gill MA, Beckenhauer WH. 1982. Development of a modified live canine origin parvovirus vaccine. Am J Vet Res, 181(9): 909~903.
 44. Goto H, Hirano T, Hirano T, Uchida E, et al. 1984. Comparative studies of physicochemical and biological properties between canine parvovirus and feline panleukopenia virus. Jpn J Vet Sci, 46(4): 519~526.
 45. Goto H, Yachida S, Shirahata T, et al. 1974. Feline panleukopenia in Japan. I. Isolation and characterization of the virus. Jpn J Ver Sci, 36: 203~211.
 46. Hsiung GD. 1980. Illustrated by light and electron microscopy: 77~86.
 47. Lennette EH, Schmidt NJ. 1979. Diagnostic procedures for viral and rickettsial infection. 5th Ed.
 48. Macarthey L, Macartney CM. 1986. Canine parvovirus. Development of immunofluorescence and immunoperoxidase techniques, Res Vet Sci, 40: 201~208.
 49. Paradiso PR, Rhode SL, Singer I. 1982. Canine parvovirus. A biochemical and ultrastructural characterization. J Gen Virol, 62: 113~125.
 50. Rhode SL, Richard SM. 1987. characterization of the trans-activation-responsive element of the parvovirus H-1 p 38 promoter. J Virol, 61(9): 2807~2815.
 51. Mengeling WL, Ridpath JF, Vorwald AC. 1988. Size and antigenic comparisons among the structural proteins of selected autonomous parvovirus. J Gen Virol, 69: 825~837.
 52. Mochizuki M, Konishi SI, Akaboshi T. 1989. Comparison of feline parvovirus subspecific strains using monoclonal antibodies against a feline panleukopenia

- virus. Jpn J Vet Sci, 5192: 264~272.
53. Mochizuki M, Akaboshi T. 1988. Structural polypeptides of feline parvovirus subspecies viruses. Jpn J Vet Sci, 50(6) : 1207~1214.
54. Goto H, Hosokawa S, Ichijo K, et al. 1983. Experimental infection of feline panleukopenia virus in specific pathogen-free cats. Jpn J Vet Sci, 45(1): 109~112.