

## 설사증 罹患犬으로 부터 분리한 canine parvovirus의 성상에 관한 연구

최해연 · 전무형\* · 박성국\*

충북 가축위생시험소 북부지소

충남대학교 수의과대학\*

(1991. 3. 10 접수)

### Biological and physicochemical properties of canine parvovirus isolated from the dogs with diarrhea

Hae-yeon Choi · Moo-hyung Jun\* · Seong-kuk Park\*

Northern Branch of Chungbuk Animal Health Laboratory

College of Veterinary Medicine, Chungnam National University\*

(Received Mar 10, 1991)

**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 Taejeon and Chungbuk province. The biological and physicochemical properties for the isolates were studied.

Among 62 fecal samples collected from the dogs with enteric diseases, 24(38.7%) showed the haemagglutinating activity to porcine erythrocyte ranging from 16 to 16,384 of HA titers. In cytopathological studies with CRFK cells, intranuclear inclusion bodies were observed in all of eight specimens with the high HA titer over 1,000, of which three specimens showed cytoplasmic inclusions concurrently with the intranuclear inclusion bodies.

It was found that the isolates revealed the highest haemagglutinating activity with porcine erythrocytes and the relatively lower haemagglutination titers with the erythrocytes from cat and rabbit. None of erythrocytes from the other animals reacted with the isolates. By the cross-haemagglutination inhibition test for the isolates with the reference viruses and sera, the isolates were evidently identified as the strains of CPV-2. In physicochemical property test, the isolates were stable in lipid solvent, pH and heat treatment at 56°C for 30 min, and showed the virus particle size less than 25 nm, containing a DNA genome.

**Key Word:** Canine parvovirus, Korean isolates, biological and physicochemical properties

### 서 론

Canine parvovirus(CPV)는 Parvoviridae에 속하는 바이러스로서<sup>1,2,3,4,5</sup> 1970년 Binn 등<sup>6</sup>에 의해 건강한 개의 분변에서 처음 분리되어 보고된 바 있으며, 그후

1978년에는 Appel 등<sup>7</sup> 및 Eugster<sup>8</sup>에 의해서 설사증 소견을 보이는 환경의 분변으로 부터 분리된 바 있었다. 이 바이러스들은 물리화학적 성상이 동일하나 항원성과 병원성이 다른 것으로 밝혀져 비병원성 바이러스인 전자를 CPV-1, 병원성이 있는 후자를 CPV-2로 명명하였다.<sup>1</sup> CPV-2는 자견에서 병원성이 강하여 출

혈성 장염, 구토 및 설사를 일으키며<sup>1,2,4,5,9</sup> 혈액학적으로는 심한 임파구감소증을 야기하고<sup>10</sup>, 때로는 심근염을 일으키며<sup>11</sup> 높은 폐사율을 보이는 것으로 알려져 있다.<sup>1,4,11</sup>

본 병은 1978년에 미국에서 처음 발생된 이후<sup>7,8</sup> 1979년에 영국, 프랑스, 캐나다, 스위스, 호주, 뉴질랜드에서 보고된 바 있고<sup>1,7,8,10,11,12</sup>, 1980년에는 이탈리아, 벨기에, 독일, 스페인, 핀란드, 스웨덴, 노르웨이 등에서 보고된 바 있으며<sup>1,4,5,9</sup>, 아시아 지역에서는 1980년 일본에서 처음 보고되었다.<sup>13</sup>

국내에서는 1981년 5월 부터 서울, 경기지역에서 구토, 설사 및 출혈성 장염을 주증으로 하는 환견이 대량 발생하였고<sup>14,15</sup>, 1982년에는 한 등<sup>14</sup>이 본 병에 대한 임상병리학적 관찰조건을 보고하였으며, 이 등<sup>15</sup>은 병인학적 연구를 수행하여 본 증이 canine parvovirus 감염 증임을 처음 확인하였다. 그뒤 본 병은 전국적으로 확산되었음이 혈청역학적 조사에 의해 밝혀졌으며, 현재 자견 사육에서 가장 피해를 많이 주는 중요한 전염병으로 간주되고 있다.<sup>5,14,16</sup>

국내 분리 CPV-2주의 성장에 대한 연구는 이등<sup>15</sup>이 1982년에 경기지역에서 발생한 환견의 분변에서 분리한 CPV에 대해 혈청학적 특성, 교차 혈구응집저지반응 및 전자현미경적 시험을 수행한 바 있으며 1983년부터 1984년에 김과 유<sup>5</sup>는 설사증 이환견으로부터 CPV를 분리하여 조직배양 증식성 및 혈구응집능에 대한 시험을 하여 이에 대한 특성을 보고한 바 있다.

그러나 CPV 분리주들의 생물학적 및 물리화학적 특성과 병원성은 역학적 환경과 숙주 집단의 면역상태 등에 따라, 차이가 있음이 지적된 바 있다.<sup>17-23</sup>

본 연구에서는 1988년에서 1989년 사이에 대전 및 충청지역 동물병원에서 임상적으로 파보바이러스 감염증으로 진단된 환견의 직장분변을 면봉으로 채취한 후 10ml의 Eagle's minimum essential medium(Gibco, USA, EMEM)이 든 스크류캡 시험관에 넣어 실험실로 옮긴 다음 3,000rpm으로 20분 간 원심한 후 disposable syringe filter (0.2 $\mu$ , Nalgen, USA)로 여과한 여액을 -20°C에 저장하여

## 재료 및 방법

**분변재료** : 대전과 충북 지역의 동물병원에서 임상적으로 파보바이러스 감염증으로 진단된 환견의 직장분변을 면봉으로 채취한 후 10ml의 Eagle's minimum essential medium(Gibco, USA, EMEM)이 든 스크류캡 시험관에 넣어 실험실로 옮긴 다음 3,000rpm으로 20분 간 원심한 후 disposable syringe filter (0.2 $\mu$ , Nalgen, USA)로 여과한 여액을 -20°C에 저장하여

공시하였다.

**세포배양** : 바이러스 분리 및 증식을 위하여 고양이 신장세포주인 Crandell feline kidney(CRFK)cell과 조대 고양이 신장세포(PFK)를 사용하였다.<sup>24</sup> 세포배양액은 EMEM에 우테아틴칭(Gibco, USA)을 시험목적에 따라 3~10%되게 가하고 penicillin(200IU/ml), streptomycin sulfate(200 $\mu$ g/ml), kanamycin(200 $\mu$ g/ml) 및 fungizone(20 $\mu$ g/ml)을 첨가하여 사용하였다.

**공시 바이러스 및 혈청** : 표준 Canine parvovirus-2주인 CPV-2-1, CPV-2-4 및 참조 양성혈청과 Feline panleucopenia virus주인 FPLV-2 및 FPLV-3주를 가속위생연구소에서 분양받아 공시하였으며, 설사증 이환견으로부터 분리된 8주 중 TJ-89-1, TJ-89-2 및 TJ-89-3주는 CRFK 및 PFK 세포에 배양하여 공시하였다.

**바이러스분리 및 역가측정** : 저장중인 분변 재료를 4~8시간 배양된 PFK, CRFK세포에 접종하여, 3~4일간 배양한 후 3회 동결 용해하고 3,000rpm으로 20분간 원심한 후 상층액을 채취하여 혈구응집시험(HA)<sup>20,26</sup>을 실시하여 바이러스의 HA unit를 산출하였다.<sup>5,17,25</sup> 또한 CPV역가를 측정하기 위해 cover slip을 넣은 Leighton tube에 CRFK세포를 배양하고 10일간 배양한 후 가검체료를 접종하여 4~5일간 증식시킨 다음 hematoxylin eosin염색을 하여 400 내지 1,000배 배율의 광학현미경으로 500~1,000개의 세포에 대한 CPV특유의 핵내봉입체를 검출하여 TCID<sub>50</sub>/ml를 산출하였다.<sup>5,17,27</sup>

**물리화학적 성장검사** : Goto 등<sup>28</sup> 및 Hsiung<sup>29</sup>의 방법을 이용하여 저질용매(chloroform, ether), pH(3.0, 8.0), 열처리(56°C, 70°C, 80°C)에 대한 안정성 시험을 하였고 Azetaka 등<sup>13</sup> 및 Hsiung<sup>29</sup>의 방법을 이용하여 핵산형 시험을 하였다. 즉 5-bromo-2-deoxyuridine(BUDR)을 EMEM에 10<sup>-4</sup>M되게 가한 후 이 배지로 CRFK를 배양하고 가검 바이러스를 4~5일간 증식시킨 뒤 바이러스 역가를 측정하였다. 또한 Millipore filter를 이용한 바이러스 입자 크기 측정은 Goto 등<sup>27</sup>의 방법을 응용하였다.

**혈구응집시험(hemagglutination test, HA) 및 혈구응집저지시험(hemagglutination inhibition test, HI)** : Macartney 등<sup>19</sup> 및 Carmichael 등<sup>21</sup>의 방법을 응용하여 수행하였다.

**간접 형광항체시험** : Hirasawa 등<sup>17</sup> 및 Macartney 등<sup>19,20</sup>의 방법을 응용하여 다음과 같이 수행하였다. cover slip에 배양된 감염 세포를 아세트론에 10분간 고정하고 건조시킨 후 anti-CPV canine serum을 37°C

에서 45분간 반응시킨 다음 PBS로 충분히 세척하고 goat anti-dog IgG FITC conjugate(Sigma: Lot No. 28F 8355)로 37°C에서 45분간 감작시키고 PBS로 세척한 후 완충 글리세린으로 봉입한 후 형광 현미경으로 경검하였다.<sup>31</sup>

## 결 과

**설사분변의 혈구응집능** : 임상적으로 canine parvovirus 감염증으로 진단된 환견 62두의 설사분변 가검물에 대해 혈구응집능을 조사한 결과 잠중견은 25두 중 12두에서, 진도견은 12두 중 5두, 도사견은 12두 중 3두,

포메라인종은 3두 중 1두에서 10이상의 혈구응집가가 인정되었으며 그레이트데인종, 테리어종 및 치와와종에서는 혈구응집능이 관찰되지 않았으며, 총 62두 중 24두(38.7%)에서 유의한 혈구응집가가 인정되었고, HA역가의 범위는 16 내지 16,384였다(Table 1).

**세포변성효과** : 출혈성 설사와 탈수 등 전형적인 개 파보바이러스 감염증 소견을 보이는 환견 중 1,000 이상의 혈구응집가를 나타내는 8개의 분변 가검체료를 선별하여 각각 CRFK세포에 접종하여 세포변성효과를 관찰한 결과 TJ-89-1, TJ-89-2, TJ-89-3, TJ-89-4 및 TJ-89-5는 핵내봉입체를 보였고(Table 2, Fig. 1), TJ-89-6, TJ-89-7 및 TJ-89-8에서는 핵내봉입체와

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

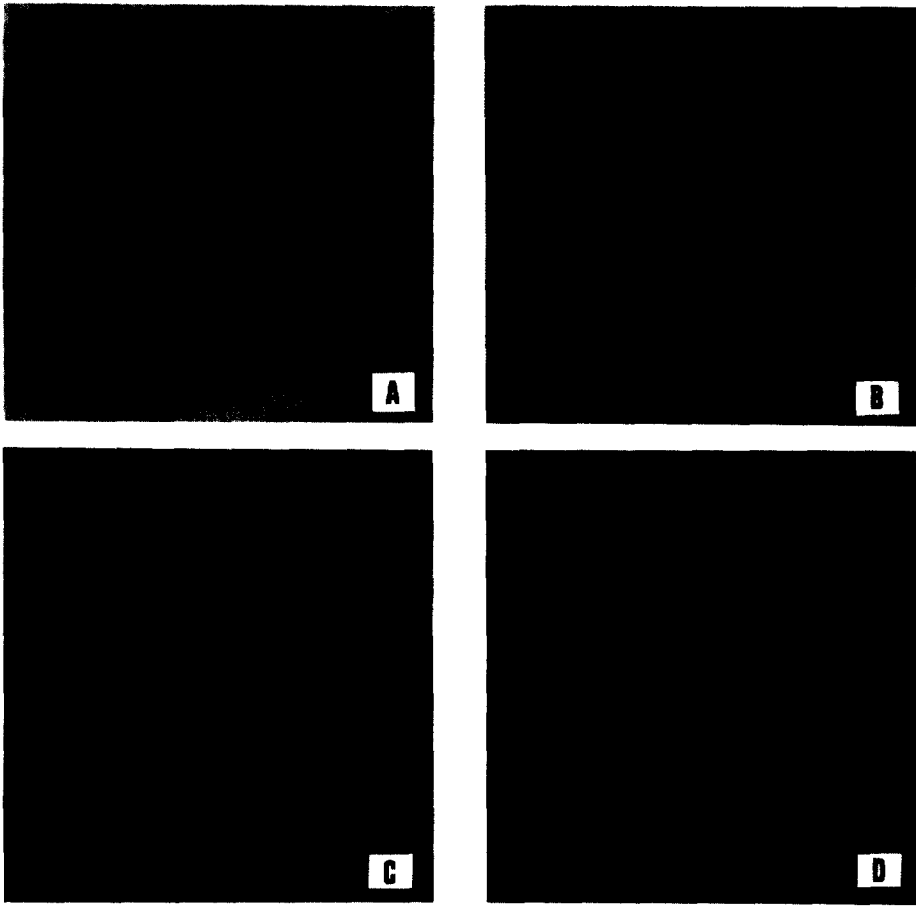
Breeds	Age(months)	No. of samples	No. of HA positive*(%)	Range of HA titer(mean)
Mix	2~ 8	25	12(23.1)	16~16,384( 894)
Jindo	2~ 8	12	5(41.7)	16~ 8,192(2,205)
Tosa	2~12	12	3(25.0)	128~ 1,024( 469)
Pomeranian	6	3	1(33.3)	1,024(1,024)
Great dane	3	1	0	
Terrier	3	1	0	
Chihuahua	3	1	0	
Total		62	24(38.7)	16~16,384(1,148)

\* HA titers over 10 were recorded as positive. 0.7% porcine erythrocyte in PBS was used.

**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,	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 were examined by H-E staining.



**Fig 1.** A,B: 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.  $\times 1,000$ .

C,D: Immunofluorescence patterns of the CRFK cell infected with TJ-89-2 strain.

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

Specific fluorescence are observed in the nucleus and cytoplasm of the infected cells.  $\times 200$ .

함께 세포질내봉입체도 관찰되었다. 또한 TJ-89-2를 접종한 CRFK세포에 대한 간접 형광항체시험에서는 특이한 형광이 세포핵과 세포질내에서 관찰되었다 (Fig 1).

**혈구응집능의 특이성** : CRFK세포에 2대 계대 배양한 분리주 TJ-89-1 및 TJ-89-2에 대한 혈구응집능의 숙주 특이성을 시험하였다. 그 결과 Table 3에서 나타낸 바와 같이 두 주 공히 돼지 적혈구와 가장 높은 혈구응집가를 보여 512 내지 1,024의 HA가를 보였고, 고양이 적혈구에 대해서는 64 내지 256의 비교적 높은 HA가를 나타냈다. 토끼 적혈구와는 아주 약한 응집능이 인정되어 2 내지 4의 HA가를 보였다. 그외에 공시한 염소, 개, 닭, 오리, 쥐, 마우스, 사람의 O형 적혈구,

그니픽, 그리고 소의 적혈구에서는 혈구응집능이 인정되지 않았다.

**교차 혈구응집저지능** : CPV야외분리주 TJ-89-1, TJ-89-2 및 TJ-89-3주의 현청학적 항원성상을 구명하기 위해 표준 CPV-2주인 CPV-2-1 및 CPV-2-4주 그리고 feline panleucopenia virus주인 FPLV-2 및 FPLV-3주와 표준 CPV-2 양성현청과 음성현청을 공시하여 교차 혈구응집저지 시험을 하였다. 그 결과 Table 4에서 요약된 바와 같이 CPV야외분리주 3주를 포함한 모든 공시 바이러스는 표준 CPV-2 음성현청과는 혈구응집저지능이 없었으나, 양성현청과는 CPV-2-1 및 CPV-2-4주는 각각 5,120 및 2,560의 HI가를 보였고, FPLV-2 및 FPLV-3와는 공히 1,280의 역가를 보

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

Source of erythrocyte*	HA titer	
	TJ-89-2**	
	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 erythrocyte=0.7%.

\*\* The virus was passaged twice in CRFK cells.

**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.

였으며, 3주의 야외 분리주는 모두 5,120 및 2,560의 HI가를 각각 나타내었다.

**물리화학적 성상 :** CPV야외의 분리주 TJ-89-1 및 TJ-89-2의 핵산형 및 물리화학적 성상을 검사하였다 (Table 5). 그 결과 분리주는 DNA합성 저지물질인 5-bromo-2-deoxyuridine (BUDR)을 처리하였을 때 증식이 대조군( $10^{8.0}$ TCID<sub>50</sub>/ml)에 비하여 현저히 저지

**Table 5.** Physicochemical properties of the isolated canine parvovirus

Treatment	Virus titers*	
	TJ-89-1	TJ-89-2
Nucleic acid type		
BUDR( $10^{-4}$ M) treated	<1.0	<1.0
Control	5.0	4.8
Lipid solvents		
20% ether, 4°C, 18hrs	4.5	4.3
5% chloroform, 4°C, 10min	5.0	5.0
Control	5.0	5.0
pH stability		
pH3.0, 22°C, 60min	4.75	4.5
pH8.0, 22°C, 60min	5.0	5.0
Control	5.0	5.0
Heat stability		
56°C, 30min	5.0	4.75
70°C, 30min	4.5	4.0
80°C, 30min	1.0	1.0
Control	5.0	5.0
Millipore filter		
100nm <sup>+</sup>	5.0	5.0
50nm	5.0	4.8
25nm	4.75	5.0
Control	4.8	5.0

\* Number represents the titer of Log TCID<sub>50</sub>/ml.

<sup>+</sup> Pore sizes.

되어 DNA핵산을 가진 virus로 인정되었다. 또한 분리주는 ether와 chloroform에 대해 비교적 안정하였고, pH3.0과 pH8.0처리에 대해서도 안정하여 처리에 따른 바이러스역가의 변동에는 유의한 차이가 인정되지 않았다. 열처리 시험에서 분리주는 56°C 30분에서 안정하였으나 70°C에 30분이상 처리에는 불안정하여 역가 손실이 인정되었으며 80°C, 30분에서는 역가가 현저히 하락하여  $10^{1.0}$ TCID<sub>50</sub>/ml로 나타났다. 또한 분리주를 100nm, 50nm 및 25nm pore size의 millipore filter를 통과시켰을 때 역가의 변동은 인정되지 않았다.

## 고 찰

CPV는 일반적으로 분열중인 세포에 쉽게 감염증식하며 halo를 가진 핵내포입체를 형성하는 특성이 있으며 이와같은 세포변성효과(cytopathic effects)는 현미경

집능과 더불어 CPV분리 및 동정에서 중요한 특성으로 간주되고 있다.<sup>5,11,20,21</sup> 본 시험에 공시한 8개의 분변 가검물은 CRFK에서 모두 핵내봉입체를 형성하여 가검체로 중에 CPV가 포함되어 있음이 증명되었다. 그러나 이 중에도 TJ-89-6, TJ-89-7 및 TJ-89-8에서는 CPV와 더불어 rota virus 및 canine distemper virus 가 혼합 감염된 것으로 추정되었다.<sup>1,2,20</sup>

임상적으로 canine parvovirus성 장염으로 진단된 환견의 설사 분변에 대한 혈구응집시험 결과는 이 등<sup>15</sup>과 김과 유<sup>5</sup>가 보고한 성적과는 다소 차이가 있었다. 이 차이는 원인 바이러스의 성상에 연유되었다기 보다는 진료차 내원한 환견의 병증의 정도 및 분변 중의 바이러스농도와 밀접한 연관성이 있으며 또한 혈구응집반응 속식 간에도 약간의 차이가 야기될 수 있다고 생각되었다.

CPV 감염세포에 대한 형광항체시험 결과(Fig 1, C,D)는 Hirasawa 등<sup>17</sup> 및 Macartney<sup>30</sup>의 보고와 유사하게 초기에는 핵내에서 CPV항원이 주로 관찰되었고, 시간이 경과함에 따라 세포질내에서도 높은 농도의 CPV항원이 관찰되어 분리주의 replication cycle이 세포질과 핵내에서 이루어짐을 알 수 있었다.

각종 동물 적혈구에 대한 혈구응집능 성적을 Carmichael 등<sup>21</sup>, Goto 등<sup>27</sup>, 김과 유<sup>5</sup> 및 최 등<sup>16</sup>의 시험 성적과 비교해 볼 때 약간의 차이가 있었다. 즉 Carmichael 등<sup>21</sup>은 CPV와 돼지 적혈구와의 응집역가가 1,024일 때 고양이 적혈구와의 응집역가는 8이었고, Goto 등<sup>27</sup>은 돼지에서 5,120일 때 고양이에서 640이었다고 보고하였다. 또한 국내에서 김과 유<sup>5</sup>는 돼지 적혈구에서 512일 때 고양이는 4이었고 최 등<sup>16</sup>은 돼지 적혈구에서 256일 때 고양이 적혈구와는 5이하였다고 보고하였다. 본 시험성적에서는 돼지 적혈구에 대한 응집역가가 1,024일 때 고양이 적혈구와의 응집역가가 256이어서 Goto 등<sup>27</sup>의 성적과는 거의 일치하였으나 Carmichael 등<sup>21</sup>, 김과 유<sup>5</sup> 및 최 등<sup>16</sup>의 성적과는 약간의 차이가 있었다. 이와같은 차이는 CPV독주 간의 혈구응집 단백질성분<sup>32,33</sup>의 차이에 기인된 것이라 생각되며, 본 시험에 공시한 2주의 CPV분리주는 돼지 및 고양이 적혈구에 대해 응집능이 있을 뿐만 아니라 특이하게 토끼 적혈구에 대한 응집능도 관찰되었다.

CPV야외분리주와 표준바이러스주와의 시험 결과 야외분리주 TJ-89-1, TJ-89-2 및 TJ-89-3은 표준 CPV-2로 공시한 CPV-2-1 및 CPV-2-4주와 동일한 항원성상을 가지고 있으며, 아울러 FPLV와도 공통항원성이 있다는 사실이<sup>27,34,35,36</sup> 혈청학적으로 증명되었다. Gillespie와 Timoney<sup>1</sup>는 CPV-1과 CPV-2는 물리화학적 성

상은 같으나 항원성상이 다르며 CPV-2의 항원성상은 FPLV와 공통점이 많다고 하였으며, 이와같은 사실은 Appel 등<sup>7</sup>의 시험에서도 확인된 바 있다. 또한 Goto 등<sup>27</sup>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-2바이러스주임이 확인되었다.

물리화학적 성상시험 결과는 Gillespie와 Timoney<sup>1</sup>가 기술한 CPV의 물리화학적 특성과 일본 분리주에 대한 Goto 등<sup>27</sup>의 성적과 매우 일치하였다. 또한 국내 분리주에 대해 보고한 김과 유<sup>5</sup>의 성적 중 lipid solvents, pH 및 열처리 성적은 매우 유사하였으나 이들의 성적에는 바이러스 역가의 양적 표현과 DNA핵산에 대한 시험 결과가 없어서 직접 비교가 어려웠다.

## 결 론

1988년에서 1989년 까지 대전 및 충북지역 동물병원에서 임상적으로 파보바이러스 감염증으로 진단된 환견의 분변으로부터 canine parvovirus(CPV-2)를 수주 분리하였고, 분리주에 대한 생물학적 및 물리화학적 성상시험을 수행한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 장염 이환견으로부터 수집한 62두의 분변 가검물 중 24두(38.7%)가 돼지적혈구에 혈구응집능이 있었으며 HA역가는 16에서 부터 16,384이었다.
2. 1,000 이상의 높은 HA역가를 보인 8개의 분변 가검물을 CRFK세포에 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 표준양성형침, 음성형침 및 표준 CPV-2 바이러스로 교차 혈구응집저지시험을 수행한 결과 분리주는 CPV-2임이 확인되었다.
5. 물리화학적 성상검사에서 분리주는 lipid solvents, pH 및 열처리(56°C, 30분)에 비교적 안정하였고, DNA 핵산을 가지며 25nm 보다 작은 직경을 가진 바이러스 임이 입증되었다.

## 참 고 문 헌

1. Gillespie JH, Timoney J.F. The parvoviridae, In; Timoney JF, Gillespie JH et al, ed. Hagan and Bruner's infectious disease of domestic animals. 8th ed. Comstock Pub Ass, Ithaca and London, 1988;511~514.
2. Buxton A, Fraser G. Parvovirus, In; Buxton A, Fraser G, ed. Animal microbiology. Blackwell Sci Pub Ltd, Oxford, London, 1977;711~716.
3. Cotomore SF, Tattersall P. The autonomously replicating parvovirus of vertebrates. Yale Univ Lab, 1985;23:91~97.
4. Mc Candlish IAP, Thompson H, Fisher EW et al. Canine parvovirus infection. *Am J Small Animal Clinie*, 1981;5~15.
5. 김태중, 류영수. 개 파보바이러스의 조직 배양 증식성 및 혈구응집능에 관한 연구, 건국대학교 축산과학 연구소 논문집. 1988;13:1~7.
6. Binn LN, Lozar EC, Eddy GA et al. Recovery and characterization of a minute virus of canine. *Inf & Inn*. 1970;1:503~509.
7. Appel MJG, Scott FW, Carmichael LE. Isolation and immunization studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *Am J Vet Res* 1979;42(5):1665~1667.
8. Eugster AK. Studies on canine parvovirus infection; Development of an inactivated vaccine. *Am J Vet Res*, 1980;41(12):2020~2024.
9. Meunier PC. Canine parvovirus in a commercial kennel epidemiologic and pathologic finding. *Cornell Vet* 1981;71:96~110.
10. Carman PS, Povey RC. Pathogenesis of canine parvovirus-2 in dogs; Hematology, serology and virus recovery. *Res Vet Sci*, 1985;38:134~140.
11. Hayes MA, Russel RG, Babiuk LA. Sudden death in young dogs with myocarditis caused by parvovirus, *Am J Vet Med*, 1979;174(11):1197~1203.
12. McCandlish IAP, Thompson H, Cornwell HJC et al. Isolation of a parvovirus from dogs in Britain. *Vet Rec*, 1979;167~168.
13. Azetaka M, Hirasawa T, Konishi SI et al. Studies on canine parvovirus isolation, experimental infection and serologic survey. *Jpn Vet Sci*, 1981;43:243~255.
14. 한홍률, 황의경, 유규연 등. 개의 마이리스성 장염의 국내 발생 보고, 대한수의학회지, 1982;22(2):167~170.
15. 이영옥, 최대영, 박봉균 등. 개 파보바이러스성 장염의 국내 발생. 대한수의학회지, 1982;22(2):171~174.
16. 최대영, 류영수, 권창희 등. 개의 파보바이러스성 감염증의 발생과 항체분포율 조사. 농진청 농사시험연구논문집, 1986;28(2):193~199.
17. Hirasawa T, Tsujimura N, Konishi SI. Multiplication of canine parvovirus in CRFK cells. *Jpn J Vet Sci*, 1985;47(1):89~99.
18. Carman PS, Povey RC. Pathogenesis of canine parvovirus-2 in dogs; Histopathology and antigen identification in tissues. *Res Vet Sci*, 1985;38:141~150.
19. Macartney L, McCandlish IAP, Thompson H et al. Canine parvovirus enteritis, 1. Clinical haematopathological and pathological features of experimental infection. *Vet Rec*, 1984;115:201~210.
20. Mochizuki, M, Hida S, Hsuan SW et al. Fecal examinations for diagnosis of canine parvovirus infection. *Jpn J Vet Sci*, 1984;46(4):587~592.
21. Carmichael LE, Jubert JC, Pollock RVH. Haemagglutination by canine parvovirus; Serologic studies and diagnostic application. *Am J Vet Res*, 1980;41(5):784~791.
22. Macartney L, McCandlish IAP, Thompson H et al. Canine parvovirus enteritis, 2. Pathogenesis. *Vet Rec*, 1984;115:453~460.
23. Lenghaus C, Studdert MJ. Generalized parvovirus disease in neonatal pups. *Am J Vet Res*, 1982;181(1):41~45.
24. Martin HT. Tissue culture and virus: Technical methods for the isolation. *Vet Invest*, 1980;1~18.
25. Hirasawa T, Hayashi T, Konishi SI. Electron microscopy of CRFK cells infected with canine parvovirus. *Jpn J Vet Sci*, 1987;49(5):765~777.
26. Bass EP, Gill MA, Beckenhauer WH. Development of a modified live canine origin parvovirus vaccine. *Am J Vet Res*, 1982;181(9):909~913.

27. Goto H, Hirano T, Uchida E et al. Comparative studies of physicochemical and biological properties between canine parvovirus and feline panleukopenia virus. *Jpn J Vet Sci*, 1984;46(4):519~526.
28. Goto H, Yachida S, Shirahata T et al. Feline panleukopenia in Japan; I. Isolation and characterization of the virus. *Jpn J Vet Sci*, 1974;36:203~211.
29. Hsiung GD. Diagnostic virology, 3rd ed, Yale Univ Press, USA, 1982;77~86.
30. Macartney L, Macartney CM. Canine parvovirus; Development of immunofluorescence and immunoperoxidase techniques. *Res Vet Sci*, 1986;40:201~208.
31. Paradiso PR, Rhode SL, Singer I. Canine parvovirus; A biochemical and ultrastructural characterization. *J Gen Virol*, 1982;62:113~125.
32. Rhode SL, Richard SM. Characterization of the transactivation-responsive element of the parvovirus H-1 P 38 promoter. *J Virol*, 1987;61(9):2809~2815.
33. Mengeling WL, Ridpath JF, Vorwald AC. Size and antigenic comparisons among the structural proteins of selected autonomous parvovirus. *J Gen Virol*, 1988;69:825~837.
34. Mochizuki M, Konishi SI, Akaboshi T. Comparison of feline parvovirus subspecific strains using monoclonal antibodies against a feline panleukopenia virus. *Jpn J Vet Sci*, 1989;51(9):264~272.
35. Mochizuki M, Akaboshi T. Structural polypeptides of feline parvovirus subspecies viruses. *Jpn J Vet Sci*, 1988;50(6):1207~1214.
36. Goto H, Hosokawa S, Ichijo K et al. Experimental infection of feline panleukopenia virus in specific pathogen-free cats. *Jpn J Vet Sci*, 1983; 3:45(1):109~112.