大韓獸醫學會誌(1994) 第34卷 第3號
Korean J Vet Res (1994) 34(3):647-652

한국에서의 canine herpesvirus감염실태에 대한 혈청역학적 조사

서 일 복 · 성 환 우* · 임 창 형
서울대학교 수의학과대학
가축위생연구소*
(1994년 6월 23일 접수)

Survey on the seroepidemiology of canine herpesvirus infection in Korea

Il-bok Seo, Whan-woo Seong*, Chang-hyeong Lim
College of Veterinary Medicine, Seoul National University,
*Veterinary Reserch Institute**
(Received June 23, 1994)

Abstract : This study was carried out to investigate the actual condition of canine herpesvirus(CHV) infection in Korea. A total of 338 serum samples were collected randomly from the breeding and companion dogs in the local areas in Korea. The serum samples were used to determine the actual condition of the canine herpesvirus infection in Korea using enzyme linked immunosorbent assay(ELISA).

The mean prevalence of CHV infection in dogs was 37% and that of the breeding and companion dogs was 58% and 28%, respectively. The prevalence of CHV infection in Seoul, Kyung-gi, Chung Nam, Cheon Nam and Pusan was detected 23%, 28%, 18%, 28% and 70%, respectively. The prevalence of CHV infection in less and more than 6 months old dogs, and in male and female dogs was 26% and 40%, 42% and 33%, respectively.

These results indicate that the incidence of CHV infection is high in Korea, especially breeding dogs and older dogs.

Key words : canine herpesvirus, seroepidemiology, ELISA

서 론

Canine herpesvirus(CHV)는 Herpesviridae의 alpha-herpesvirus속의 바이러스로서 개를 비롯한 늑대, 이리, 코요테 등과 같은 개과 동물에 감염되며, 신생자견에 감염시 급성의 전신성 패혈증을 일으키고 임신모견에 감염시 유산 또는 사산을 야기하는 개의 주요한 전염성 질병이다[12,16,34].

Carmichael et al[5,6]에 의해서 최초로 CHV감염증이 공식적으로 보고된 이후 많은 신생자견의 폐사예로부터 CHV가 분리되기 시작하였으며 영국[31], 호주[15], 일본[23], 대만[27] 및 한국[35]에서 CHV감염증이 보고되어 이 질병은 전세계적으로 분포되어 있음이 확인되었다.

CHV감염증은 다른 동물의 herpesvirus감염증에서와 같이 신생개체에서는 전신성 질병을 일으키나 성견에서는 가벼운 생식기 및 호흡기 감염을 일으킨다[16].

Carmicheal과 Barnes[7]는 CHV를 개신장세포에 배양시 35~37℃에서 그 증식이 최고에 달하였으나 그 이상

의 온도에서는 증식이 현저히 억제됨을 관찰하고 CHV감염증의 연령감수성은 상대적으로 낮은 신생자견의 체온[9]과 밀접한 연관성이 있다고 하였다. 성견에서 CHV감염증이 호흡기 및 생식기에 국한되어 나타나는 것도 이 부분이 상대적으로 낮은 온도가 유지되기 때문이라 하였다.

Binn et al[2]이 기관지염(tracheobronchitis)을 앓고 있는 성견으로 부터 CHV를 분리한 후 여러 연구자에 의해서 CHV가 성견에서 기관지염의 원인체로 작용할 가능성이 있는 것으로 보고된 바 있다[25,33].

Poste와 King[30]은 불임, 유산, 사산 등의 번식장애가 있던 성견의 생식기에서 CHV를 분리한 후 여러 연구자에 의해서 CHV감염에 의한 생식기 질병이 확인되었으며[20,22], 이로 인해 분만시 감염된 산도를 통한 CHV의 전파와 교미에 의한 전파의 가능성을 시사하였다. 또한 Hashimoto et al[18,19,21]은 임신말기의 모견에 실험적으로 CHV를 정맥접종시 유산, 사산, 미이라화 등의 번식장애가 초래되며 모체 및 태아측 태반에 핵내봉입체를 동반한 괴사성 태반염이 야기됨을 관찰하여 CHV가 태반감염을 통해 태아에 전파될 수 있음을 확인한 바 있다.

Joshua[24]는 건강한 성견의 60%이상에서 생식기 점막의 발진이 형성되어 있음을 보고하면서 그 중 대부분은 CHV감염이 원인일 것이라고 추정하였다.

다른 동물의 herpesvirus에서와 같이 CHV의 잠복감염은 많은 연구에서 그 가능성이 제시되어 왔다[13,28]. Kraft와 Riggs[26]는 개 파보바이러스감염증에 이환된 성견 및 *Clostridium perfringens*에 감염된 성견에서 CHV를 분리하였으며 개 파보바이러스감염증의 소견과 더불어 CHV감염증의 전형적인 병변을 관찰하여 잠복감염상태의 CHV가 다른 질병의 감염에 따른 스트레스하에서 재활성화 될 수 있음을 보고하고 성견에서의 잠복감염이 질병의 전파에 중요한 역할을 한다고 하였다. 또한 Binn et al[4]은 개 파보바이러스 장염을 앓고 있는 개체에서 CHV의 혈청중화항체 양성율이 45%에 달함을 관찰하고 CHV에 의해서 장염의 발생이 증가될 수 있다고 하였다.

CHV감염개체를 확인하기 위한 혈청학적 방법으로 혈청중화반응이 널리 이용되어 왔다[3,5,29]. Carmichael[8]은 기존의 혈청중화반응에 의한 CHV에 대한 항체가의 측정은 CHV가 면역성이 낮기 때문에 감염초기 및 항체가가 낮은 시기에서는 항체가 검출되지 않음을 지적하고 기니픽 보체를 첨가한 개량혈청중화반응법을 적용하면 항체검출에 있어서 민감성이 높아진다고 보고하였다.

효소면역항체법(ELISA)은 형청중화반응보다 민감도 및 정확도에서 우수하고 시간과 노동력이 절약되는 특성으로 인해서 여러 바이러스성 질병 검사에 널리 이용되고 있으며 특히 돼지의 오제스키병 진단에 널리 이용되고 있다[10].

Takumi et al[32]은 CHV감염증의 혈청학적 진단으로 ELISA를 개발하고 기존의 중화항체 반응과 비교검토하여 ELISA에 의한 항체의 검출은 기니픽 보체를 첨가한 개량중화항체반응법보다 민감하여 감염초기 및 낮은 수준의 항체농도에서도 검출이 가능하다고 하였다.

이상과 같이 CHV감염증은 이미 전세계적으로 발생되고 있음이 확인되었고 여러 연구자들에 의해서 각국에서의 감염실태, 진단방법의 확립, 병리발생 등에 관한 연구가 활발히 진행되어 왔다. 그러나 국내에서는 1992년에 CHV감염증이 공식적으로 확인되었을 뿐 이 질병에 대한 자료는 거의 없는 상태이다.

따라서 본 연구에서는 야외에서 수집한 개혈청에 대해서 ELISA를 이용한 CHV감염증의 혈청역학적 조사를 통해 국내에서의 감염실태를 파악하여 이 질병의 예방 및 근절에 관한 기초자료를 수립하기 위해서 실시하였다.

재료 및 방법

공시 바이러스 : ELISA항원제조에 사용한 바이러스는 미국 Cornell대학교 수의과대학에서 분양받은 CHV-F205주를 사용하였다.

ELISA용 항원제조

세포배양 : ELISA항원제조에 사용한 Madin-Darby canine kidney(MDCK) 세포는 10% tryptose phosphate broth(TPB)와 항생제(kanamycin 100μg/ml, streptomycin 100μg/ml, penicillin 100IU/ml)가 첨가된 Eagle's minimal essential medium(Difco, USA)에서 배양하였으며 증식용 배지에는 5%, 유지용 배지에는 1% 비동화 송아지 혈청을 첨가하여 5% CO_2분압이 유지되는 37℃ 배양기에서 배양하였다.

배양 및 정제 : 조직배양용 플러스크($225cm^2$)에 MDCK 단층세포를 형성시킨 후 MDCK세포에서 계대배양한 CHV-F205주를 $10^{4.0}$ $TCID_{50}$/ml로 희석하여 플라스크 당 10ml씩 접종하여 30분간 흡착시키고 40ml의 유지배지를 첨가하여 배양하였다. 72시간 배양후 배양액과 세포를 회수하여 3회 동결 융해한 다음 4000g에서 20분간 원심하여 세포를 제거하고 상층액을 48,000g로 1시간 30분동안 초원심(Beckman XL-90, Type 19 rotor, 18,000rpm)하여 바이러스를 침전시켰다. 침전된 바

이러스를 10ml의 TNE buffer(0.01M Tris-HCl, 0.1M NaCl, 0.1M EDTA, pH 7.4)로 재부유시킨 뒤 20, 30, 40, 45%(w/w)로 형성된 sucrose gradient에 중층하여 4℃에서 110,000g로 2시간 동안 초원심(Beckman XL-90, SW 41Ti rotor, 25,300rpm)하였다. 30~40%(w/w) 사이에 형성된 바이러스 band를 채취하여 4℃에서 phosphate buffered salin(PBS, pH 7.4)으로 하룻밤동안 투석한 다음 ELISA용 항원으로 사용하였다.

항원의 부착(antigen coating) : 정제된 CHV-F205 바이러스 항원을 carbonate-bicarbonate buffer(0.05M Na_2HCO_3, pH 9.6)에 500mg/ml되게 희석하여 ELISA용 96 well plate(Maxisorp F96, Nunc)에 well당 100㎕씩 분주하여 4℃에서 하룻밤동안 정치하여 부착시켰다.

CHV양성혈청 및 음성혈청 : CHV-F205주를 MDCK 세포에 2대 계대배양하여 제조한 바이러스를 $2\times10^{5.0}$ $TCID_{50}$/ml 역가가 되도록 희석한 다음 8개월령의 잡종견에 1ml를 비강으로 접종하였다. 1차 접종 6주 후에 비강내에 동일한 양으로 2차 접종한 뒤 4주후에 채혈하여 CHV에 대한 양성혈청으로 사용하였다.

음성혈청은 CHV에 대한 중화항체음성인 모견에서 분만된 1일령의 자견 10마리에서 채혈하여 사용하였다.

검사혈청 : 서울, 경기, 강원도를 비롯한 전국 각지에서 사육되는 사육되는 338두의 개에서 채혈하여 분리된 혈청을 대상으로 하였다.

ELISA 과정 : ELISA용 microplate에 항원을 부착시킨 다음 세척용 PBS로 3회 세척하고 검사혈청을 10% 송아지 혈청이 함유된 0.05% Tween 20 PBS로 1/50로 희석하여 well당 50㎕씩 넣고 실온에서 1시간 30분동안 반응시켰다. 반응 후 세척용 PBS로 3회 세척하고 horseradish peroxidase(HRP) conjugated rabbit anti-dog IgG(Chemicon, USA)를 희석용 PBS로 1/8000로 희석하여 well당 50㎕씩 넣고 실온에서 1시간 30분동안 반응시켰다. 반응후 세척용 PBS로 3회 세척하고 ABTS(KPL, USA)를 well당 100㎕씩 넣은 다음 30분동안 발색시킨 후 ELISA reader(Dynatech MR 4000)로 410nm에서 흡광도를 측정하였다.

검사혈청의 희석배수는 양성혈청을 1/25부터 1/16,000까지 이진희석하여 항원이 부착된 well과 항원을 부착시키지 않은 대조용 well에서 ELISA과정을 5회 반복하여 흡광도차가 직선식 범위내에 들어가는 희석배수인 1/50로 결정하였다.

양성의 판정은 음성혈청 10두를 혈청희석배수 1/50에서 3회 반복하여 측정한 흡광도의 평균에 표준편차의 3배수를 더하여 결정된 positive negative threshold line의 값 0.3 이상을 양성으로 간주하였다.

통계처리 : 성별 및 연령별 ELISA항체양성율에 대해서는 SAS통계패키지(SAS institute, verson 6.04, 1991)를 이용하여 Chi-Square test를 실시하여 유의성을 검정하였다.

결 과

항체양성율 : 야외에서 수집한 개혈청 총 338두 중 103두는 번식, 판매 및 기타 목적으로 집단사육되는 개체에서, 235두는 가정에서 애완동물로 사육되는 개체에서 수집하였다. 검사혈청 338두에 대한 ELISA 항체양성율은 Table 1과 같으며 집단사육견에서의 양성율은 58%였고 애완견에서는 28%의 수준으로 나타났다.

Table 1. Prevalence of breeding and companion dogs infected with canine herpesvirus by ELISA

Breeding type	No of dogs tested	No of ELISA positive dogs	Percent
Breeding dogs	103	60	58
Companion	235	66	28
Total	338	126	37

지역별 항체양성율 : 지역별 ELISA 항체양성율은 검사혈청 중 집단사육견의 혈청을 제외한 235두의 혈청을 대상으로 조사하였으며 그 결과는 Table 2와 같다. 이중 서울, 경기 및 전남의 항체양성율은 전체 애완견의 항체양성율과 비슷한 수준이었으나 충남은 18%로 낮게 나타났으며 부산의 경우는 70%로 현저히 높은 수준으로 나타났다.

Table 2. Geographic distribution of antibody positive in companion dogs aganist canine herpesvirus by ELISA

Region	No of dogs tested	No of ELISA positive dogs	Percent
Seoul	61	14	23
Kyung-gi	103	29	28
Chung nam	11	2	18
Cheon nam	50	14	28
Pusan	10	7	70
Total	235	66	28

성별 및 연령별 항체양성율 : 성별 및 연령별 ELISA 항체양성율은 검사혈청 338두 모두를 대상으로 조사하였으며 그 결과는 Table 3과 같다. 연령에 따른 차이는 6개월 이상이 6개월 미만보다 높은 항체양성율을 나타냈으며($p<0.05$) 성별에 따른 분포는 수컷이 암컷보다 높게 나타났으나 유의성은 없었다.

Table 3. Prevalence of antibody positive dogs against canine herpesvirus in age groups and both sexes by ELISA

Age and sex		No of dogs tested	No of ELISA positive dogs	Percent
Age	〈6 Months	64	17	26
	〉6 Months	273	109	40
Sex	Male	163	69	42
	Female	176	57	33

고 찰

CHV감염증은 Carmichael et al[5]에 의해서 알려진 후로 전세계적으로 그 발생이 확인되어 왔으며 국내에서는 김 등[35]에 의해서 알려졌으며 개 전염성간염(infectious canine hepatitis) 및 개 파보바이러스감염증과 함께 신생자견의 주요 폐사원인으로 여겨지고 있다[17,34].

CHV감염증은 신생자견에서 그 경과가 급속하게 진행되어 일단 발병되면 치료는 거의 불가능하며 바이러스의 면역성원이 매우 낮기 때문에[12] 불활화 바이러스 백신에 의해서 형성되는 항체가는 매우 낮은 수준이며[11], 생독 바이러스백신은 불현성감염의 위험성을 내포하고 있어 현재까지 유용한 치료제 및 백신은 개발되지 못하고 있다. 따라서 이 질병은 감염원을 차단하는 방법이 질병의 예방에 있어서 대단히 중요하다.

Takumi et al[32]에 의해서 CHV감염의 혈청학적 진단법으로 ELISA가 개발되기 이전에 감염개체를 확인하기 위한 방법으로는 혈청중화반응이 널리 이용되어 왔으며, 미국에서는 성견에서 CHV의 중화항체양성율이 6~12.8%였다고 보고된 바 있다[14,15]. 서독에서 Bibrack과 Schaudinn[1]은 검사혈청 315예 중 22.2%의 중화항체양성율을 확인하였으며 집단사육견에서는 39.1%의 높은 양성율을 나타낸다고 하였다. 특히 몇몇 진단에서는 임신 모견에서 80%의 높은 양성율을 확인하기도 하였다. 스위스에서는 Engels et al[11]에 의해서 CHV 중화항체양성율은 6%라고 보고한 바 있으나 신생자견의 폐사와 관련된 번식문제가 있는 집단에서는 100%에 달하였다고 보고한 바 있다.

본 연구에서는 총 338예의 야외혈청에 대해서 Takumi et al[32]의 방법에 준해서 ELISA방법으로 항체가를 조사하였던 바 총 37%의 양성율이 검출되었다. 이중 반려동물로서 사육되는 애완견에서는 28%의 양성율이 확인되었고 군견 또는 번식목적으로 집단사육되는 집단사육견에서는 58%의 높은 양성율이 나타났다.

이상과 같은 성적은 다른 나라에서 조사보고된 양성율보다 높게 나타났으나 애완견과 집단사육간의 항체양성비율은 유사하게 나타났다. 이러한 결과로 미루어 우리나라도 이미 CHV감염증은 만연된 상태이며 특히 집단사육견에서는 번식과 관련되어 심각한 피해를 주리라 믿어진다. Takumi et al[32]은 ELISA 방법을 개발하면서 혈청중화반응과 비교해서 일본내에서의 감염실태를 조사한 바 있으며 혈청중화반응으로는 양성율이 5% 수준이었으나 ELISA 항체양성율은 26% 수준으로 검출되었다고 한 바 있다. 이러한 수준은 본 조사에서 나타난 애완견의 항체양성율인 28%와 유사한 수준이라 생각되며 다른 나라에서 조사된 낮은 감염률은 검사방법의 차이 때문인 것으로 사료되었다. 본 조사에서 관찰된 지역별 애완견의 ELISA 항체양성율은 서울, 경기, 전남 지역에서는 23~28%의 양성율이 나타났으나 부산은 70%의 높은 수준으로 확인되었다. 부산에서 수집한 표본수가 10두에 불과하기에 통계학적 유의성을 찾아보기에는 부족하다고 생각되나 이 지역에서도 CHV감염증이 널리 만연되어 있으리라 예상된다.

성별에 따른 항체양성율은 수컷에서 다소 높게 관찰되었으나 유의성 있는 차이를 보이지는 않았기에 CHV감염증의 성에 따른 감수성은 없다고 생각된다.

연령에 따른 항체양성율은 6개월령 이상에서 6개월 미만보다 유의성 있게 높게 나타났다. 이러한 결과는 CHV에 감염된 신생자견은 그 대부분이 폐사되며 어린 개체에서는 기관지염의 원인으로 작용할 수 있고 개파보바이러스 장염의 발생과 연관성이 있으므로[2] CHV감염과 관련되어 개체의 폐사율이 높아지기 때문인 것으로 생각된다.

본 연구에서는 6개월령 이상의 성견에서 40%의 높은 항체양성율이 확인되었고, 암컷에서는 33%의 높은 항체양성율이 확인되었다. 이러한 성적은 CHV는 외부에서 생존이 어려우며, 또한 잠복감염이 가능함을 미루어 볼 때 국내에서 CHV감염증이 만연되는 것은 성견 및 암컷에서의 높은 항체양성율과 밀접한 관련이 있다고 사료되었다.

본 연구의 결과를 종합할 때 CHV감염증은 국내에

서 널리 만연되어 있으며 집단사육견에서 특히 문제되고 있음이 확인되었다. 따라서 앞으로의 연구에서는 국내분리 CHV의 병원성에 대한 연구 및 CHV감염증을 예방하기 위한 백신의 개발과 이 질병의 잠복감염을 확인할 수 있는 진단법의 개발이 이루어져야 하리라 본다.

결 론

국내에서 canine herpesvirus(CHV)감염실태를 파악하기 위해서 야외에서 수집한 개혈청 338두를 대상으로 효소면역항체법(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)를 이용한 혈청역학적 조사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

검사혈청 338두 중 CHV에 대한 ELISA 항체양성율은 37%였으며, 사육형태별로는 집단사육견 및 애완견에서 각각 58%와 28%였다.

지역적인 ELISA 항체양성율은 서울, 경기, 충남, 전남 및 부산에서 각각 23, 28, 18, 28 및 70%였다.

성별에 따른 ELISA 항체양성율에는 유의성 있는 차이가 없었으나 연령에 따라서는 6개월이상의 개체에서는 40%, 6개월미만의 개체에서는 26%로 나타났다.

이상과 같은 결과로 미루어 보아 CHV감염증은 이미 국내에서 높은 수준으로 만연되어 있으며 특히 집단사육견에서는 번식과 관련되어 심각한 피해를 초래하리라 사료된다.

참 고 문 헌

1. Bibrack B, Schaudinn W. Untersuchungen uber das vorkommen von herpesinfektionen bei hunden in der bundersrepublik deutschland mit hilfe eines neutralisations-schenelltestes. *Zbl Vet Med* 1976; 23: 384-390.
2. Binn LN, Eddy GA, Lazar EC, et al. Viruses recovered from laboratory dogs with respiratory disease. *Proc Soc Exp Biol M* 1967; 126: 140-145.
3. Binn LN, Koughan WP, Lazar EA. Simple plaque procedure for comparing antigenic relationships of canine herpesvirus. *JAVMA* 1970; 156: 1724-1725.
4. Binn LN, Marchwicki RH, Eckermann EH, et al. Viral antibody studies of laboratory dogs with diarrheal disease. *Am J Vet Res* 1981; 42(10): 1665-1667.
5. Carmichael LE, Strandberg JD, Barnes FD. Identification of a cytopathogenic agent infectious for puppies as a canine herpesvirus. *Proc Soc Exp Biol M* 1965; 120: 644-650.
6. Carmichael LE, Squire RA, Krook L. Clinical and pathologic features of a fatal viral disease of newborn pups. *Am J Vet Res* 1965; 26(113): 803-814.
7. Carmicheal LE, Barnes FD. Effect of temperature on growth of canine herpesvirus in canine kidney cell and macrophage cultures. *J Infect Dis* 1969; 120(6): 664-668.
8. Carmichael LE. Herpesvirus canis: Aspect of pathogenesis and immune respones. *JAVMA* 1970; 156: 1714-1721.
9. Crighton GW. Thermal balance in newborn puppies. *Vet Rec* 1962; 74: 474-481.
10. Duffy SJ, Morrison RE, Goyal SM. Use of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of infection with pseudorabies virus on a herd basis. *JAVMA* 1992; 200: 499-502.
11. Engels M, Bibrack BM, Ruckstuhl B, et al. Seroepidemiology of canine herpesvirus infections in Switzerland and preliminary experiments with a vaccine. *Zbl Vet Med B* 1980; 27: 257-267.
12. Evermann JF, LeaMaster BR, McElwain TF, et al. Natural infection of captive coyote pups with a herpesvirus antigenically related to canine herpesvirus. *JAVMA* 1984; 185: 1288-1290.
13. Evermann JF, McKerinan AJ, Ott RL, et al. Diarrheal condition in dogs associated with viruses antigenically related to feline herpesvirus. *Cornell veterinarian* 1982; 72: 285-291.
14. Fulton RW, Ott RL, Duenwald JC, et al. Serum antibodies against canine respiratory viruses. Prevalence among dogs of eastern Washington. *Am J Vet Res* 1974; 35(6): 853-855.
15. Geldard H, Greering WA, Bagust, TJ. Isolation of a herpervirus from neonatal dogs in Australia. *Aust Vet J* 1971; 47: 286-287.
16. Greene CE. Canine herpesvirus infection. Infectious diseases of the dog and cat, 1st ed. W. B. Saunders 1990; 252-258.
17. Guy JS. Diagnosis of canine viral infections. *Vet*

Clin North Am 1986; 16: 1145-1156.

18. Hashimoto A, Yamaguchi T, Hirai K, et al. Studies on canine herpesvirus infection of puppies: Ⅱ. Experimental transplacental transmission of canine herpesvirus in pregnant Dog. *Res Bull Fac Agr* 1979; 42: 189-192.
19. Hashimoto A, Hirai K, Yamaguchi T, et al. Experimental transplacental infection of pregnant dogs with canine herpesvirus. *Am J Vet Res* 1982; 43: 844-850.
20. Hashimoto A, Hiral K, Fukushi H, et al. The vaginal lesions of a bitch with a history of a canine herpesvirus infection. *Jpn J Vet Sci* 1983; 45: 123-126.
21. Hashimoto A, Hirai K, Suzuki Y, et al. Experimental transplacental transmission of canine herpesvirus in pregnant bitches during the second trimester of gestation. *Am J Vet Res* 1983; 44: 610-614.
22. Hill H, Marc CJ. Genital disease in dogs caused by canine herpesvirus. *Am J Vet Res* 1974; 35: 669-672.
23. Hirai K, Miyoshi A, Yagami K, et al. Isolation of herpesvirus from naturally occurring case with hemorrhagic and necrotizing lesions of puppies. *Res Bull Fac Agr* 1978; 41: 139-153.
24. Joshua JO. "Dog pox". Some clinical aspects of an eruptive condition of certain mucous surfaces in dogs. *Vet Res* 1975; 96: 300-302.
25. Karpas A, Garcia F, Calvo F, et al. Experimental production of canine tracheobronchitis(kennel cough) with canine herpesvirus isolation from naturally infected dogs. *Am J Vet Res* 1968; 29: 1251-1257.
26. Kraft S, Riggs M. The Role of neonatal canine herpesvirus infection in mixed infections in older dogs. *Compend Small Ani* 1986; 8: 688-696.
27. Lin JC, Shu CT, Chung MS, et al. Studies on canine herpesvirus infections in Taiwan. Pathology, virus isolation and identification and experimental infection. *Chinese J Vet Res* 1983; 9: 113-117.
28. Love D N. Review of canine viral disease. *Aust Vet J* 1972; 48: 567-570.
29. Lundgren DL, Clapper WE. Neutralization of canine herpesvirus by dog and human serums. A survey. *Am J Vet Res* 1969; 30: 479-482.
30. Poste G, King N. Isolation of a herpesvirus from the canine genital tract. Association with infertility, aborton and stillbirths. *Vet Res* 1971; 88: 229-233.
31. Prydie J, Harrison MJ, Graham J. Isolation of a canine herpesvirus. *Vet Res* 1966; 79: 660-661.
32. Takumi A, Kusanagi K, Tuchiya K, et al. Serodiagnosis of canine herpesvirus infection. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay and its comparison with two improved methods of serum neutralization test. *Jpn J Vet Sci* 1990; 52: 241-250.
33. Thompson H, Wright NG, Cornwell HJC. Canine herpesvirus respiratory infection. *Res Sci* 1972; 13: 123-126.
34. Wright NG, Cornwell HJC. Experimental herpesvirus infection in young puppies. *Res Vet Sci* 1968; 9: 295-299.
35. 김옥진, 박응복, 안수환 등. Canine herpesvirus (CHV) 감염증의 자연발생예 관찰과 감염실험. 대한수의학회지 1992; 32(2): 217-225.