

## 개 파보바이러스 감염에 대한 Modified Live Virus Vaccine의 효과

유기일 · 한정희<sup>1</sup> · 권혁무 · 서강문  
강원대학교 수의학과

### Effect of Modified Live Virus Vaccine against Canine Parvovirus Infection

Ki-il Yoo, Jeong-hee Han<sup>1</sup>, Hyuk-moo Kwon and Kang-moon Seo

Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University, Chuncheon, 200-701, Korea

**ABSTRACT** : This study was performed to verify the effect of modified live virus vaccine against canine parvovirus (CPV) infection. Serum hemagglutination inhibition (HI) test, histopathological and immunohistochemical techniques and polymerase chain reaction were used. The results were as follows: 1. During the experimental terms after vaccination, serum HI titer was stable. Geometric mean titer (GMT) after the 1st vaccination was 280. After virulent CPV was challenged, GMT was 1,306. 2. After challenge by virulent CPV, the vaccinated group was not shown clinical signs and gross and histopathological findings. 3. After challenge by virulent CPV, the vaccinated group was not detected viral antigens in the small intestine immunohistochemically. 4. After challenge by virulent CPV, the vaccinated group was not shown virus shedding in feces. In conclusion, the overall results confirmed that modified live virus vaccine was effective on prevention of canine parvovirus infection.

**Key words** : modified live virus vaccine, canine parvovirus infection, serum HI test, histopathological and immunohistochemical techniques, polymerase chain reaction

## 서 론

Canine parvovirus (CPV)-2 감염은 1978년 치명적인 개의 바이러스질환으로 최초로 보고되었다<sup>11</sup>.

개의 parvovirus는 건강한 개의 분변에서 흔히 분리되며 병원성이 없는 CPV-1과 심한 장염과 심근염을 유발하여 자견에 피해를 주는 CPV-2로 구분된다<sup>6</sup>.

CPV에 대한 면역성에 있어서 대부분의 성견은 예방접종이나 자연감염에 의해서 면역이 성립되며 이행항체를 통해 신생자견에 전달되게 되고 자견은 모체 이행항체가 방어수준 이하일 때 감염에 민감하게 된다<sup>20</sup>. 때때로 자견의 CPV에 대한 면역은 태어난 첫째 동안은 모체이행항체의 간섭으로 CPV 백신에 대한 면역반응이 제대로 나타나지 않는다<sup>15,18</sup>.

자견의 모체이행항체는 섭취된 초유의 양, 분만 시 혈청항체가 그리고 산자수에 따라 다양하고<sup>15</sup>, 이행항체가 얼마나 오래동안 CPV백신에 대해 간섭작용을

지속하는 지는 자견에 접종하는 CPV백신의 종류에 따라서도 다르다<sup>24</sup>. 새로운 세대의 low passage, high titer, modified-live virus (MLV)백신은 모체이행항체의 수준이 낮을 때 면역반응의 억제를 위해 필요하고, 모체이행항체가 면역반응을 간섭하는 기간동안 면역반응 자극에 더 월등하다고 하였다<sup>24</sup>.

자견에서 혈구응집억제역가(hemagglutination inhibition titer, HI)가 1:80 또는 그 이상이면 감염을 방어하거나 백신역가를 방해한다<sup>3</sup>. High-titer MLV백신은 1:80과 동량의 HI역가를 가진 자견이나 1:80 보다 약간 낮은 HI역가를 가진 자견에서 면역반응을 유도한다<sup>2</sup>.

High-titer MLV 백신은 유럽에서 처음 사용되었고 최근에 북아메리카에서 사용되어지고 있다<sup>3,5</sup>. 이러한 백신은 4주령에서 18주령의 CPV에 감염되기 쉬운 자견에서 사용되고 있다<sup>19,20</sup>.

본 연구는 high-titer/low-passage된 MLV백신이 모체이행항체에 의한 간섭을 얼마나 극복하고 조기에 면역형성을 유도하여 파보바이러스감염에 얼마나 효과적인가를 검증하고자 실시하였다.

<sup>1</sup>Corresponding author.

## 재료 및 방법

### 사용백신

시험에 사용된 canine parvovirus 백신은 low passage, high-titer를 특징으로 하는 modified live virus vaccine (Vanguard Puppy<sup>®</sup> CPV, Pfizer Animal Health Co.)으로 10<sup>7.6</sup>TCID<sub>50</sub>/ml 이상 되는 것을 사용하였다.

### 실험동물

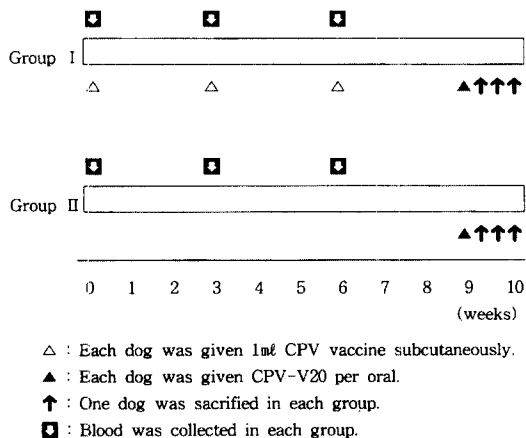
생후 5주령된 자견 15마리를 일주일동안 시험장소에서 적응 사육시킨 후, 10마리를 백신접종군, 5마리를 대조군으로 시험에 사용하였다. 실험전기간 동안 사료와 물은 자유급여토록 하였다.

### 백신접종

백신은 6주령에 1차, 9주령에 2차, 12주령에 3차를 접종하였고, 접종하기 전에 충분히 잘 흔들어서 멸균주사기로 1ml를 피하로 주사하였다.

### 실험설계

15마리의 개는 실험군 10마리와 대조군 5마리로 나누어 각 군의 체중평균이 비슷하도록 배치하였다. 실험군인 I군은 실험개시일과 실험개시 3주일과 6주일 후에 두당 1ml의 백신을 주사하였으며, 실험개시 9주일에 병원성이 확인된 국내분리주 CPV-V20을 8,192HI 농도로 경구투여하였다. 대조군인 II군은 실험개시 9주일에 병원성이 확인된 국내분리주 CPV-V20을 8,192HI 농도로 경구투여하였다(Text-Fig 1). 실험기간은 총 10주일이었으며 실험개시일과 실험개시 후 3주일, 6주일, 9주일에 혈청학적 검사를 위하여 채혈하였다



Text-Fig 1. Design of experiment.

며, 공격접종 후 3, 5, 7일에 실험군 및 대조군으로부터 1마리씩을 선택하여 부검을 실시하였다.

### 개 파보바이러스에 대한 항체역가 측정

혈중항체가는 혈구응집억제법으로서 측정하였다. 1:10으로 희석하게 96well plate의 첫번째 well에 넣고, 두번째 well부터는 2배로 단계희석한 후 수의과학연구소로부터 분양받은 개 파보바이러스 HA항원을 8HA unit로 희석된 혈청에 동량을 더한 다음, 37°C에서 1시간 반응시키고, 여기에 동량의 0.75% 돼지 적혈구를 첨가하여 4°C에서 4시간 정치시킨 후 혈구응집억제유무를 관찰하였다.

### 병리학적 검사

**임상증상 관찰:** 백신접종 후 임상증상 관찰은 정상 투여량을 접종한 백신군에서 백신투여에 의한 부작용으로 나타날 수 있는 식욕결핍, 설사, 구토 및 발열 등을 관찰하였다. 공격접종한 경우에는 7일동안 상기와 동일한 임상증상을 관찰하였다.

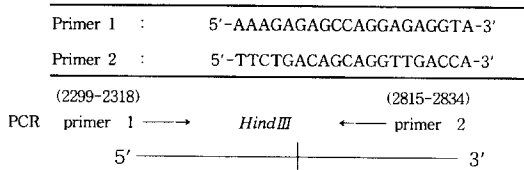
**병리조직학적 검색:** 공시백신 CPV modified live vaccine의 효과를 병리조직학적으로 검색하기 위하여 실험개시 후 9주일에 강독주인 CPV-V20으로 공격접종하였고, 그 후 3, 5, 7일에 부검을 실시하여 소장을 적출하여 10% 중성포르말린에 고정하였다. 고정된 소장은 일상적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀 포매한 후 4 μm두께로 조직절편을 제작하여 hematoxylin-eosin (H&E)염색을 실시한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

파라핀절편에서 CPV항원의 분포를 알아보기 위하여 avidin-biotin-peroxidase complex (ABC)법을 Hsu 등의 방법에 준하여 실시하였다. 실험에 사용된 1차 항체는 국내분리 CPV V11주를 마우스에 면역시켜 생산된 monoclonal anti-mouse IgG는 수의과학연구소에서 분양받아 사용하였다. 2차 항체는 biotinylated anti-mouse rabbit IgG를 사용하였다. Avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) 염색은 Vector Elite Kit (Vector Labs., PK-6102)를 사용하였다.

### 공격 바이러스의 shedding 조사

공격 바이러스 접종 후 바이러스 shedding 여부를 확인하기 위하여 공격접종한 후 3일부터 rectal swab을 실시하여 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction; PCR)을 적용하였다.

**분변재료:** 멸균된 면봉(CULTURETTE<sup>®</sup>, BBL)으로 직장에서 분변을 채취하여 4 ml phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.2)과 면봉을 screw cap tube에 넣고 진



**Text-Fig 2.** Primers for PCR amplification.

탕한 후 13,000 rpm으로 5분동안 원심분리하여 상층액을 새로운 tube에 옮겨 -70°C에서 보관하면서 CPV 검사를 위한 실험에 사용하였다.

PCR을 위하여 상층액을 직접 PCR template로 사용하거나 phenol/chloroform 추출방법으로 DNA를 순수 분리하여 사용하였다.

### Primers

본 실험에 사용한 primer들은 Reed 등<sup>21</sup>, Parrish 등<sup>17</sup> 그리고 박 등<sup>28</sup>이 발표한 canine parvovirus 유전자를 비교하여 VP 1/VP 2 gene에 존재하는 보존역만을 증폭시킬 수 있는 Hirasawa 등<sup>8</sup>이 사용한 두쌍의 primer를 DNA synthesizer (Model 394-08 Applied Biosystems, USA)로 합성하였다. Primer 1과 primer 2를 PCR에 사용하였다(Text-Fig 2).

### PCR

PCR 반응액은 DNA Thermal Cycler 480 (Perkins Elmer Cetus, USA)을 이용하여, 94°C에서 5분간 가열한 후 94°C에서 1분(denaturation), 55°C에서 1분(annealing), 72°C에서 1분(extension)간의 과정을 30회 반복하여 증폭시킨 후 최종적으로 72°C에서 증폭된 DNA를 15분동안 연장시켰다.

PCR을 실시한 다음 1% agarose gel에서 전기영동하여 CPV의 특이증폭산물인 536bp의 band 생성유무를 UV-transilluminator에서 확인하였다.

## 결 과

### 개 파보바이러스에 대한 항체역가

CPV 백신의 효과를 알아보기 위하여 접종 전 및 접종 후 개 파보바이러스에 대한 혈청역가를 알아보기 위하여 실험개시일과 실험개시 후 3주일, 6주일, 9주일에 혈액을 채혈하여 혈청을 분리한 후 -20°C에 보관한 다음 혈구응집억제법으로 측정하였다.

CPV 백신을 접종한 I군은 약간의 변화는 있었지만 혈중항체가 일정하게 유지되었고, 대조군인 II군의 모체이행항체는 시간이 지남에 따라 급속히 소멸되었

**Table 1.** Serum antibody titers to canine parvovirus (CPV) after vaccination with modified live canine parvovirus vaccine determined by hemoagglutination-inhibition test

Groups	Puppy No.	HI antibody titers			
		0*	3	6	9
Group I	I-1	640	160	80	1,280
	I-2	40	640	160	1,280
	I-3	40	320	80	1,280
	I-4	40	160	320	1,280
	I-5	80	1,280	640	1,280
	I-6	2,560	640	640	2,560
	I-7	2,560	320	640	1,280
	I-8	640	1,280	640	640
	I-9	80	40	320	2,560
	I-10	160	80	640	2,560
Group II	II-1	640	80	40	10
	II-2	320	20	10	10
	II-3	1,280	160	20	10
	II-4	160	40	10	<10
	II-5	320	80	20	10

\*Weeks after 1st vaccination.

0: 1st vaccination, 3: 2nd vaccination, 6: 3rd vaccination, 9: challenge.

다. 백신을 접종한 I군에서는 1차 백신접종시점에 대한 평균항체가(geometric mean titer)는 208이었으나 공격접종 시점의 평균항체는 1,306으로 6배 이상 상승하였다(Table 1).

### 병리학적 소견

**임상증상:** 백신접종 후 임상증상 소견은 백신접종군인 I군에서 백신투여에 따른 부작용으로 동반할 수 있는 식욕결핍, 설사, 구토 및 발열 등이 관찰되지 않았다. 공격바이러스에 의한 방어 여부를 판정하기 위하여 강독주로 공격접종 후 7일간 체온, 식욕결핍, 설사, 구토를 관찰한 결과 백신접종군인 I군과 대조군인 II군 모두에서 강독주 공격 후 7일간 뚜렷한 체온의 변화는 관찰되지 않았다(Table 2).

임상증상에 있어서 백신접종군인 I군에서는 뚜렷한 증상이 관찰되지 않았으나 대조군인 II군에서는 식욕결핍, 설사, 구토 등이 관찰되거나 폐사되었다(Table 3).

**병리조직학적 소견:** 백신접종군과 대조군에 대한 소장의 특징적인 병리조직학적 소견은 다음과 같다. 공격접종 후 3일에 백신접종군 I군에서는 가벼운 선외상피세포의 변성과 괴사소견을 보였으나 특징적인

**Table 2.** Body temperature changes after challenge with virulent canine parvovirus

Groups	Puppy No.	Body temperature (°C)							
		0*	1	2	3	4	5	6	7
Group I	I-1	39.3	39.8	39.4	39.6	39.7	39.5	39.5	39.1
	I-2	39.3	39.4	39.8	39.7	39.7	39.5	40.2	39.0
	I-3	38.4	39.0	39.6	N**				
	I-4	39.1	38.9	39.3	39.0	39.3	39.4	39.4	39.2
	I-5	38.9	38.5	39.0	39.2	38.8	39.0	39.1	39.0
	I-6	40.0	39.2	39.9	38.9	40.0	N		
	I-7	39.2	39.0	39.7	38.5	39.4	39.1	39.5	39.7
	I-8	38.9	38.7	38.8	38.7	39.4	38.9	39.0	39.0
	I-9	38.5	38.9	39.0	39.3	38.7	39.2	40.2	N
	I-10	39.0	39.0	39.0	38.0	39.5	39.3	39.2	38.9
Group II	II-1	38.3	38.5	39.1	N				
	II-2	39.1	38.8	39.4	38.9	39.5	died		
	II-3	38.4	38.2	39.1	38.9	38.5	N		
	II-4	38.4	38.6	39.1	38.7	39.0	38.9	39.3	N
	II-5	39.0	39.0	39.4	39.5	39.3	39.4	38.8	N

\*: Days after challenge.

\*\*: N = Necropsyed.

**Table 3.** Clinical signs after challenge with virulent canine parvovirus

Groups	Puppy No.	Clinical signs							
		0*	1	2	3	4	5	6	7
Group I	I-1	-	-	-	-	-	-	-	-
	I-2	-	-	-	-	-	-	-	-
	I-3	-	-	-	N**				
	I-4	-	-	-	-	-	-	-	-
	I-5	-	-	-	-	-	-	-	-
	I-6	-	-	-	-	-	N		
	I-7	-	-	-	-	-	-	-	-
	I-8	-	-	-	-	-	-	-	-
	I-9	-	-	-	-	-	-	-	N
	I-10	-	-	-	-	-	-	-	-
Group II	II-1	-	-	-	N				
	II-2	-	-	-	A***	A,V,D	died		
	II-3	-	-	-	A,D	D	N		
	II-4	-	-	-	A,V	A,D	A,D	V,D	died
	II-5	-	-	-	-	A	A,D	V,D	N

\*: Days after challenge.

\*\*: N=Necropsyed.

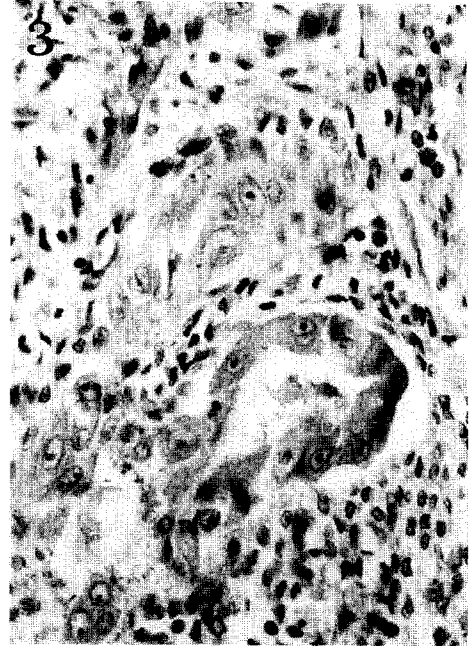
\*\*\*: A=Anorexia, V=Vomiting, D=Diarrhea.

병리조직학적 변화가 관찰되지 않았다(Fig 1). 대조군 II군에서 관찰된 특징적인 병리조직학적 소견은 선와 상피세포의 변성, 공포화 및 괴사소견을 보였고(Fig 2)

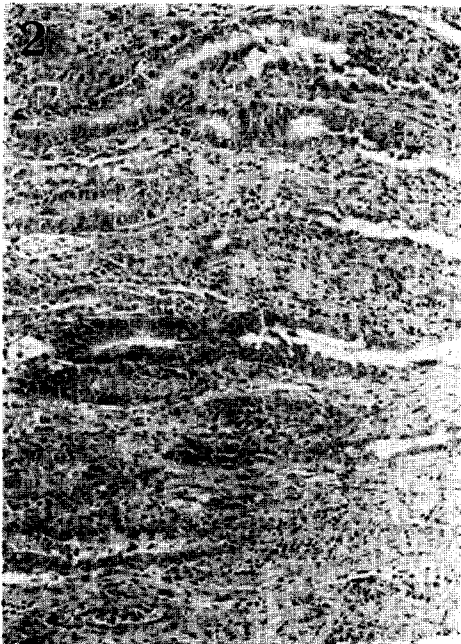
괴사된 선와내강에는 괴사되어 탈락된 상피로 가득 차고, 선와상피세포에서 호산성의 핵내봉입체가 관찰 되었다(Fig 3, Table 4).



**Fig 1.** Slight degeneration and necrosis of cryptal and villous epithelia are observed. Vaccinated group at 3rd day post CPV challenge. HE, 100.



**Fig 3.** Eosinophilic intranuclear inclusions within cryptal epithelia are appeared. Nonvaccinated group at 3rd day post CPV challenge. HE, 400.



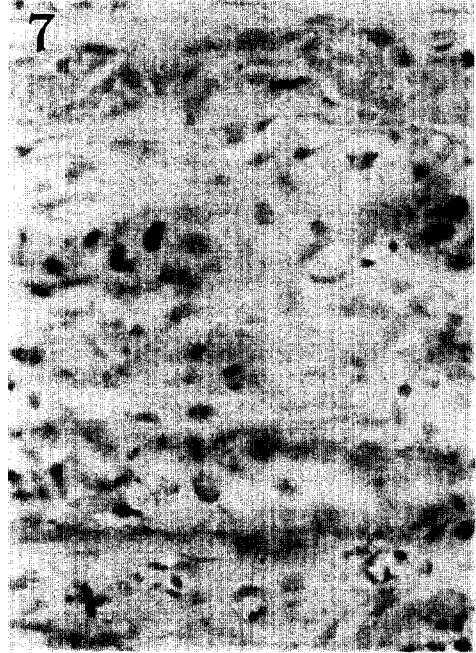
**Fig 2.** Degeneration, vacuolation and necrosis of cryptal and villous epithelia and desquamated epithelia are observed. Non-vaccinated group at 3rd day post CPV challenge. HE, 100.



**Fig 4.** No microscopic lesion is observed. Vaccinated group at 5th day post CPV challenge. HE, 100.



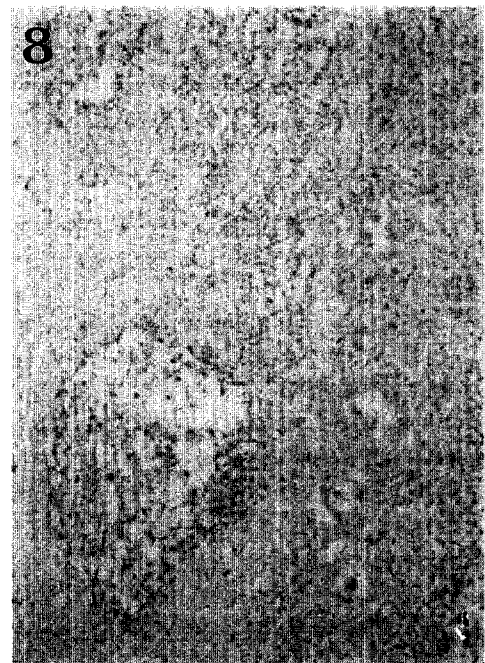
**Fig 5.** Blunted and fused villi are observed. Nonvaccinated group at 5th day post CPV challenge. HE, 100.



**Fig 7.** Antigens at cryptal epithelia and cryptal lumen are detected. Nonvaccinated group at 3rd day post CPV challenge. ABC, 400.



**Fig 6.** Severe necrosis and desquamation of cryptal and villous epithelia and depletion of lymphoid cells of Peyer's patches are shown. Nonvaccinated group at 5th day post CPV challenge. HE, 100.



**Fig 8.** Antigens at lymphoid cells of Peyer's patch are detected. Nonvaccinated group at 5th day post CPV challenge. ABC,  $\times 100$ .

**Table 4.** Histopathological findings in the small intestine of dog sacrificed at 3rd day post challenge

Group \ Lesion	Necrosis of the crypt epithelium	Blunted and fused of the villi	Intranuclear inclusions	Regeneration of the crypt epithelium
I	+*	±	-	-
II	+++	+	++	+

\*: The degree of histopathological changes.

-: Within normal limits, ±: Slight, +: Mild, ++: Moderate, +++: Severe.

**Table 5.** Histopathological findings in the small intestine of dog sacrificed at 5th day post challenge

Group \ Lesion	Necrosis of the crypt epithelium	Blunted and fused of the villi	Intranuclear inclusions	Regeneration of the crypt epithelium
I	.*	-	-	-
II	+++	+++	+	+

\*: The degree of histopathological changes.

-: Within normal limits, ±: Slight, +: Mild, ++: Moderate, +++: Severe.

**Table 6.** Histopathological findings in the small intestine of dog sacrificed at 7th day post challenge

Group \ Lesion	Necrosis of the crypt epithelium	Blunted and fused of the villi	Intranuclear inclusions	Regeneration of the crypt epithelium
I	.*	-	-	-
II	+	++	-	+++

\*: The degree of histopathological changes.

-: Within normal limits, ±: Slight, +: Mild, ++: Moderate, +++: Severe.

공격접종 후 5일에 백신접종군 I군에서는 특징적인 병리조직학적 변화가 관찰되지 않았다(Fig 4). 대조군 II군에서 관찰된 병리조직학적 소견은 용모세포가 변성, 괴사 및 탈락소견을 보여 위축되거나(Fig 5), 회장 부위의 점막하직층의 Peyer's patch를 구성하고 있는 림프구의 변성과 괴사에 따른 소실소견이 관찰되었다(Fig 6). 선와상피세포에서는 호산성의 핵내봉입체를 볼 수 있었다(Table 5).

공격접종 후 7일에 백신접종군 I군에서는 특징적인 병리조직학적 변화가 관찰되지 않았다. 대조군 II군에서 관찰된 병리조직학적 소견은 선와상피세포의 재생과 고유층의 단핵구로 구성된 염증세포의 침윤이 관찰되었다(Table 6).

**조직내 항원의 분포:** 조직내 항원 존재의 유무를 면역조직화학염색을 실시하여 조사한 결과, CPV 공격접종 후 3, 5, 7일에 백신접종군인 I군에서는 항원이 존재하지 않아 면역조직화학적 검사에 음성이었으나, 대조군인 II군에서는 CPV 공격접종 후 3일에 확장된 선와상피세포와 선와상피세포강내 면역조직화학적 검사에 양성반응이었고(Fig 7), CPV 공격접종 후 5, 7일에는 회장 점막하직층의 Peyer's patch 부위에서도

양성반응이 나타났다(Fig 8).

### 공격바이러스의 shedding

공격바이러스의 shedding을 조사하기 위하여 강독주 공격접종 3일 후부터 rectal swab을 하여 PCR법으로 검사한 결과 백신접종군인 I군에서 공격바이러스의 shedding이 일어나지 않았으나, 대조군인 II군에서는 공격접종 3일 후부터 관찰되어 백신접종이 공격바이러스의 shedding을 막을 수 있음을 보여주었다(Table 7).

## 고찰

1981년 CPV감염이 처음 국내에 발생된 후 외국으로부터 백신을 도입하여 사용하였고<sup>34</sup>, 이어서 국내에서도 백신개발에 성공하여<sup>32</sup>, 보급함으로써 CPV감염의 발생은 감소되었으나 아직도 산발적으로 발생하여 개 질병 중 가장 많은 피해를 주고 있다<sup>27,30,31,33,35</sup>. 백신을 한 경우에서도 초유를 통한 모체이행항체의 존재로 백신접종의 효과가 나타나지 않는 경우가 많다<sup>25</sup>. 이러한 이유로 모체이행항체에 영향을 적게 받는 백

**Table 7.** Virus shedding after challenge with virulent canine parvovirus determined by PCR

Groups	Puppy No.	Virus shedding								
		0*	1	2	3	4	5	6	7	
Group I	I-1	-	ND	ND	-	-	-	-	-	-
	I-2	-	ND	ND	-	-	-	-	-	-
	I-3	-	ND	ND	N**	-	-	-	-	-
	I-4	-	ND	ND	-	-	-	-	-	-
	I-5	-	ND	ND	-	-	-	-	-	-
	I-6	-	ND	ND	-	-	N	-	-	-
	I-7	-	ND	ND	-	-	-	-	-	-
	I-8	-	ND	ND	-	-	-	-	-	-
	I-9	-	ND	ND	-	-	-	-	-	N
	I-10	-	ND	ND	-	-	-	-	-	-
Group II	II-1	-	ND	ND	N	-	-	-	-	-
	II-2	-	ND	ND	+***	+	died	-	-	-
	II-3	-	ND	ND	+	+	N	-	-	-
	II-4	-	ND	ND	-	-	+	+	-	died
	II-5	-	ND	ND	-	+	+	+	+	N

\*: Days post challenge.

\*\* : N=Necropsied.

\*\*\*: +; PCR positive, -; PCR negative, ND; No isolation attempt.

신으로 개발된 modified live virus 백신에 대한 효능을 연구하였던 바 혈중 HI역가와 임상증상조건, 병리학 적 소견, 바이러스 shedding 등으로 보아 CPV감염의 방위에 월등한 효과가 있음이 관찰되었다.

Goto 등<sup>7</sup>은 일본에서 분리한 CPV-2를  $10^{6.0}$ TCID<sub>50</sub>/ml 접종한 바 8두 중 1두(12.5%)가 폐사하였고, Macartney 등<sup>13,14</sup>은 영국에서 분리한  $1.3 \times 10^5$ HA역가의 2 ml CPV-2를 감염시킨 14두의 자견 중 3두(21.4%)가 폐사하였다고 보고하였다. 본 실험에서 8,192HA역가의 국내분리 CPV-V20주를 1 ml 접종한 결과 백신접종군인 I군에서는 한 두도 폐사하지 않았으나(0%), 대조군인 II군에서는 접종 5두 중 2두(40%)가 심한 장염을 보이면서 폐사하였으므로 국내분리 CPV-2의 병원성이 높다는 사실을 입증한 것으로 사료된다. 또한 국내에서 CPV의 항체보유현황은 1년령이하 백신을 접종한 개에서 평균 87.6%인데 비해 백신을 접종하지 않은 개에서 평균 71.4%를 보여 기존 백신의 효과가 미비함을 알 수 있었다<sup>29</sup>.

Carmon과 Povey<sup>4</sup>는 CPV접종 후 3일에 혈중HI역가가 급증하여 8 내지 12이었고, 8일 내지 9일에 1,536 내지 3,072에 도달하였다고 보고하였고, Azetaka 등<sup>1</sup>은 접종 후 3일부터 급증하여 5일에 722에 도달한다고 하였다. 본 실험에서 혈중HI역가는 백신접종군인

I군에서는 약간의 변화는 있지만 대체로 일정하게 유지되었으나, 대조군인 II군의 역가는 시간이 지남에 따라 급속히 소멸되었다.

Carman과 Povey<sup>4</sup>와 Azetaka 등<sup>1</sup>은 급성 폐사예에서는 혈중HI역가가 낮은 반면에 다소 지속적인 증상을 나타내는 예에서는 혈중HI역가가 높게 나타난다고 보고하였다. 본 실험에서는 대조군인 II군에서 이와 유사한 소견이 관찰되었다.

CPV는 3주령 내지 8주령의 자견에서 비화농성 심근염을 보이며<sup>10,22,23</sup>, 8주령이상의 자견에서는 심한 구토, 설사를 주증상으로 하고<sup>13</sup>, 24주령 이상의 성견에서는 준임상적으로 발현한다고 하였다<sup>20</sup>. 본 실험에서 백신접종군인 I군은 CPV공격접종 후 특이한 임상증상을 보이지 않았으나 대조군인 II군은 CPV공격접종 후에 뚜렷한 체온의 변화는 관찰되지 않았으나 식욕 결핍, 구토, 설사 등의 임상증상을 보였다.

Macintire와 Smith-Carr<sup>12</sup>에 의하면 CPV장염에 따른 특징적인 병리조직학적 소견으로 초기 병변은 선와상피세포의 괴사에 따른 확장된 선와강에는 탈락된 선와상피세포들로 가득 차고, 때때로 선와상피세포에서 핵내봉입체가 보인다고 하였다. 병변이 진행되면 융모상피세포가 탈락 및 위축되어 흡수장애와 소화불량을 일으키게 된다. 중증의 경우에는 융모의 완전한 허



탈과 파괴가 나타나고, 보다 진행된 병변에서는 상피세포의 재생과 고유층점막에 염증세포의 침윤을 보이며 병변은 주로 소장내 한정되어 나타나지만, 심한 경우에는 상부맹장까지 파급된다고 하였다<sup>19</sup>. 본 실험에서의 백신접종군인 I군에서는 CPV공격접종 후 아무런 병리조직학적 소견을 관찰할 수 없었으나, 대조군인 II군에서는 CPV공격접종한 후 Macintire와 Smith-Carr<sup>12</sup>와 유사한 소견을 관찰할 수 있었다.

O'sullivan 등<sup>16</sup>은 개 파보바이러스장염의 실험적 감염에서 초기에는 소장점막 중간부위의 선와상피세포에 많은 수의 핵내봉입체가 보이며 기저부 선와상피세포에도 핵내봉입체가 관찰된다고 하였다. 감염 후 3일에 가장 많이 나타나며 이후 점차 감소한다고 하였다. 본 실험에서는 백신대조군인 I군에서는 핵내봉입체가 전혀 관찰되지 않았으나 대조군인 II군에서는 CPV공격접종 후 3일에 선와상피세포에서 핵내봉입체가 관찰되었다가 감소되어 O'sullivan 등<sup>16</sup>의 소견과 유사하였다. Macartney 등<sup>14</sup>은 면역조직화학적 기법을 이용하여 개 파보바이러스 장염의 병변이 진행됨에 따라 선와상피세포에서 항원은 적게 관찰된다고 하였고, 구<sup>26</sup>는 병변의 경과에 따른 조직내 항원분포가 Macartney 등<sup>13</sup>의 분류법에 준하여 A, B, C형으로 분류하여 관찰하였던 바 A형에서는 선와상피세포의 핵에서 세포질보다 항원이 많이 분포되었고 확장된 선와강의 탈락된 상피세포에서도 많은 양이 관찰되었다. B형에서는 붕괴된 선와에서 유래된 상피세포의 핵과 세포질에서 동일한 비율로 항원이 관찰되었고 결합조직까지 확산되어 나타났고, C형에서는 용모부위 상피세포의 핵과 세포질에서 항원이 관찰되었다고 보고하였다. 본 실험에서는 백신대조군인 I군에서는 면역조직화학적 검사에서 항원이 관찰되지 않았으나 대조군인 II군에서는 CPV공격접종 후 3일에는 선와상피세포의 핵과 확장된 선와강의 탈락된 상피세포에서 항원이 관찰되었다. 5일에는 붕괴된 선와상피세포의 핵과 결합조직에서 양성반응을 보였고, 7일에는 용모부위의 상피세포에서 양성반응을 나타내어 구<sup>26</sup>가 관찰했던 CPV감염시의 항원분포와 유사한 결과를 확인할 수 있었다.

본 연구에서는 CPV감염에 대한 modified live virus 백신의 효능에 대하여 알아보고자 1, 2, 3차 백신접종시 혈중HI역가를 측정하였고 백신접종 후 CPV공격접종함으로써 CPV감염을 방어하는 가를 병리학적 검사와 공격바이러스의 shedding에 대해 PCR을 사용하여 효과를 검증하였다. 그 결과 modified live virus 백신은 CPV감염 방어에 유효한 효과가 있음을 알 수 있

었다. 그러나 CPV감염은 연령, 장내 세균총의 변화, 장관내 기생충감염 등 선와상피세포의 유사분열을 촉진시키는 요인이 있을 시 CPV에 대한 선와상피세포의 감수성이 더욱 심하게 나타나므로, 이러한 변이요인과 CPV장염의 상관관계에 대한 세밀한 조사와 연구가 수행되어야 할 것이다.

## 결론

본 연구는 개 파보바이러스(canine parvovirus)감염에 대한 modified live virus 백신에 대한 효능을 규명하고자 혈중HI역가, 병리학적 검사 및 PCR을 이용하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 백신접종에 따른 혈중HI역가는 거의 일정하게 유지되었으며, 1차 백신접종시 평균항체기는 208이었으나 CPV공격접종한 후는 1,306이었다.
2. 백신접종 후 CPV공격감염시 임상증상과 육안 및 병리조직학적 소견이 관찰되지 않았다.
3. 백신접종 후 CPV공격감염시 면역조직화학적으로 조직내의 항원반응은 음성이었다.
4. 백신접종 후 CPV공격감염시 바이러스의 shedding은 없었다.

이상의 결과로서 CPV modified live virus 백신이 개 파보바이러스 감염의 방어에 있어서 효과가 있음을 알 수 있다.

## 참고 문헌

1. Azetaka M, Hirasawa T, Konishi SI, Ogata M. Studies on canine parvovirus isolation, experimental infection and serologic survey. Jpn Vet Sci 1981; 43: 243-255.
2. Buonovoglia G, Tollis M, Buonovoglia D, Puccini A. Response of pups with maternal derived antibody to modified live canine parvovirus vaccine. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 1992; 15: 281-282.
3. Burtonboy S, Charlier P, Hertoghs J, Lobmann M, Wiseman A, Woods S. Performance of high titer attenuated canine parvovirus vaccine in pups with maternally derived antibody. Vet Rec 1991; 128: 377-381.
4. Carman PS, Povey RC. Pathogenesis of canine parvovirus-2 in dogs : Hematology, serology and virus recovery. Res Vet Sci 1985; 38: 134-140.
5. Churchill A. Preliminary development of a live attenuated canine parvovirus vaccine from an isolate of British origin. Vet Rec 1987; 120: 334-339.
6. Gillespie JH, Timoney JF. The parvovirus. In: Hagan

- and Brunner's infectious disease of domestic animal. 8th ed. Ithaca and London: Comstock Pub Assoc. 1988: 511-514.
7. Goto H, Hirano T, Uchida E, Watanabe K, Shinagawa M, Ichijo S, Shimizu K. Comparative studies of physicochemical and biological properties between canine parvovirus and feline panleukopenia virus. *Jpn J Vet Sci* 1984; 46: 519-526.
  8. Hirasawa T, Kaneshige T, Mikazuki M. Sensitive of canine parvovirus DNA by the nested polymerase chain reaction. *Vet Micro Biol* 1994; 41: 135-145.
  9. Hsu Sm, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29: 577-580.
  10. Jezyk PF, Haskins ME, Jones CL. Myocarditis of probable viral origin in pups of weaning age. *JAVMA* 1979; 174: 1204-1207.
  11. Kramer JM, Meunier PC, Pollock RVH. Canine parvovirus; Update. *VMSAC* 1980; 75: 1541-1550.
  12. Macintire DK, Smith-Carr S. Canine parvovirus: II. Clinical signs, diagnosis and treatment. *Comp Cont Educ Pract Vet* 1997; 19: 291-302.
  13. Macartney L, MaCandlish IAP, Thomson H, Cornwell HJC. Canine parvovirus enteritis 1; clinical haematopathological and pathological features of experimental infection. *Vet Rec* 1984; 115: 201-210.
  14. Macartney L, MaCandlish IAP, Thomson H, Cornwell HJC. Canine parvovirus enteritis 2; pathogenesis. *Vet Rec* 1984; 115: 453-460.
  15. O'Brien SE. Serologic response of pups to the low-passage modified live canine parvovirus-2 component combination vaccination. *JAVMA* 1994; 204: 1207-1209.
  16. O'Sullivan G, Durham PJK, Smith JR, Campbell RSF. Experimentally induced severe canine parvoviral enteritis. *Aus Vet J* 1984; 61: 1-4.
  17. Parrish CR, Aquadro CF, Lisa Atrassheim M, Evermann JF, Sgro JY, Mohammed HO. Rapid antigenic-type replacement and DNA sequence evolution of canine parvovirus. *J Virol* 1991; 65: 6544-6552.
  18. Pollock RVH, Carmichael LE. Maternally Derived immunity to canine parvovirus infection: Transfer, decline, and interference with vaccination. *JAVMA* 1982; 180: 37-42.
  19. Pollock RVH, Carmichael LE. Canine viral enteritis; Canine parvoviral enteritis. In: *Infectious disease of dogs and cat*, 1st ed. Philadelphia: WB Saunders Co. 1990: 269-297.
  20. Pollock RVH, Coyne MJ. Canine parvovirus; Gastroenterology; The 1990s, *Vet Clin North Am: Small Anim Pract* 1993; 23: 555-568.
  21. Reed AP, Jones EV, Miller TJ. Nucleotide sequence and genome organization of canine parvovirus. *J Virol* 1988; 62: 266-276.
  22. Robinson WF, Wilcox GE, Flower RLP. Canine parvovirus disease; Experimental reproduction of the enteric form with a parvovirus isolated from a case of myocarditis. *Vet Pathol* 1980; 17: 589-599.
  23. Robinson WFS, Huxtable CR, Pass DA. Canine parvoviral myocarditis; A morphologic description of the natural disease. *Vet Pathol* 1980; 17: 282-293.
  24. Smith-Carr S, Macintire DK, Swango LJ. Canine parvovirus; Part I. Pathogenesis and vaccination. *Comp Cont Educ Pract Vet* 1997; 19: 125-133.
  25. Swango LJ, Barta R, Fortney W. Choosing a canine vaccine regimen. Part 3. Round table discussion. *Canine Pract* 1995; 6: 21-26.
  26. 구자록. 개 파보바이러스 장염의 감염일령에 따른 병변의 병리조직학적 및 면역조직화학적 관찰, 대한수의학회지 1994; 34: 537-547.
  27. 김지인. 한국에서의 개 파보바이러스 장염의 수혈치료에 대한 임상적 고찰. 대한수의사회지 1984; 20: 622-630.
  28. 박종현, 송재영, 이중복, 현방훈, 안수환, 전무형. 국내에서 분리된 Canine Parvovirus의 구조유전자 Cloning과 염기서열 분석. 대한수의학회지 1992; 32: 555-567.
  29. 윤기복, 감분일, 박남용, 한동운. 간접형광항체법에 의한 개 바이러스 -canine distemper virus, canine parvovirus, canine coronavirus, canine adenovirus type-2, canine parainfluenzavirus- 항체분포 조사. 대한수의학회지 1995; 35: 75-85.
  30. 이영옥, 모인필. 개 파보바이러스병의 발생 및 예방. 대한수의사회지 1984; 20: 271-278.
  31. 이영옥, 최대영, 박봉균, 한홍율, 황의경, 유규연. 개 파보바이러스성 장염의 국내 발생. 대한수의사회지 1982; 22: 171-174.
  32. 이영옥, 허영. 개 코로나 바이러스 감염증과 개 파보 바이러스 감염증의 감별진단과 치료예방. 대한수의사회지 1986; 22: 353-356.
  33. 최대영, 류영수, 권창희, 김용희, 김두희. 개의 파보 바이러스성 감염증의 발생과 항체율 조사. 농사시험 연구논문집 1986; 28: 193-199.
  34. 한태우. 최근 해외에서 발생하고 있는 개 파보 바이러스성 장염. 서울수의사회지 1981: 22-28.
  35. 한홍율, 황의경, 유규연, 이영옥. 개의 바이러스성 장염의 국내발생보고. 대한수의사회지 1982; 22: 167-170.