

국내 사육 돈군내 Porcine cytomegalovirus에 관한 혈청역학적 연구

강문일 · 한 미 · Tomoko Tajima* · 한동운 · 김희선 · 김병한** · 김홍집*** · 안수환**

전남대학교 수의과대학 · 日本大阪府堺市學園農學部獸醫學科*
국립수의과학검역원 바이러스과** · 대상(주) 축산과학연구소***
(1998년 5월 2일 접수)

Seroepidemiological study on porcine cytomegalovirus to pigs in Korea

Mun-il Kang, Mi Han, Tomoko Tajima* , Dong-un Han, Hee-sun Kim,
Byung-han Kim** , Hong-jib Kim*** , Soo-hwan Ahn**

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Kwangju
*Department of Veterinary Science, Osaka Prefecture University, Japan**
*Department of Virology, National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang***
*Institute of Animal Science, Daesang Co, Ltd, Icheon, Korea****
(Received May 2, 1998)

Abstract : The purpose of this study was to investigate the confirmation and prevalence of porcine cytomegalovirus (PCMV) infection of pigs in Korea using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Four hundred-eighty one sera tested were collected from the areas of Kyonggi, Kangwon, Chungcheong, Cholla, Gyongsang and Cheju during the year of 1991 to 1997 except 1994.

PCMV antigen, OF-1 strain, for ELISA, was prepared 19-PFT-F cell line originated from porcine fallopian tube. Positive control was used by sera made from the specific pathogen free piglets which were infected with OF-1 strain.

Three hundred-sixty seven of 481 sera (76.3%) were positive against PCMV. Antibody titers of these seropositives were classified by 129 (26.8%) cases in more than 1 : 12,800, 77 (16.0%) in 1 : 6,400, 76 (15.8%) in 1 : 3,200, 44 (9.2%) in 1 : 1,600, and 41 (8.5%) in 1 : 800, respectively. Also, the seropositive pigs were divided by 87.4% (76/87) in older than 6 month-old, 73.9% (238/322) in 2~6-month old, and 73.6% (53/72) in less than 2-month old, respectively. Regional prevalence rate of PCMV infection in Korea showed 89.7% (70/78) in Chungchong, 79.8% (83/104) in Cholla, 79.4% (143/180) in Kyonggi, 79.3% (42/53) in Gyongsang, 50% (15/30) in Kangwon, and 38.9% (14/36) in Cheju area, respectively. In the sera collected in 1991, seropositive rate was appeared as 90.2% (37/41). From 1992 to 1997 except 1994, the average infection rate to PCMV was 77.5%.

이 연구는 1998년도 전남대학교 학술진흥재단의 학술연구비를 받아 수행되었음.

Address reprint requests to Dr. Mun-il Kang, College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Kwangju, 500-757, Republic of Korea. E-mail : mikang@chonnam.chonnam.ac.kr

Consequently, these results confirmed that PCMV in Korean piggeries was introduced at least before the year of 1991. More importantly, PCMV infection has been prevailing nation-wide in pig herds in Korea.

Key words : porcine cytomegalovirus(PCMV), ELISA, inclusion body rhinitis, serology.

서 론

세계적으로 양돈산업의 경쟁력 약화를 초래하고 있는 주요한 호흡기 질병의 하나인 "돼지 봉입체성 비염"은 suid herpesvirus-2형에 속하는 porcine cytomegalovirus(PCMV)가 병원체로 알려진 만성 전염병이다^{1,4}.

PCMV는 에테르나 클로로포름에 불안정하여 불활화되지만 분리주의 병원성과 독성의 차이에 영향을 주는 항원변이는 알려져 있지 않다^{5,6}.

이 질병의 원인체인 PCMV 비리온은 120~150nm 크기로서 12면체의 외피를 가지고 있다⁷. 이 바이러스는 80~100nm의 캡시드와 그 핵심은 난원형, 직사각형 혹은 아령모양을 취하고 있다⁸.

이 바이러스 감염증의 주요한 침입과 배출문호는 비강이다^{8,15}. 바이러스가 일단 돼지의 비강에 들어와 비점막을 침입하게 되면 그 곳의 점액선 내에서 7~14일동안 일차적인 증식을 하고 그후 2~3주동안 바이러스 혈증을 유발한다^{11~13}. 감염후 19~24일 사이에 바이러스가 점액선에서 비강내로 배출되고, 개체별로 보면 최소한 7일정도 배출을 보인다^{9,13}. 이 바이러스는 누액선에서도 증식이 이루어지기 때문에 결막내 면봉채취를 통해서도 분리될 수 있고, 바이러스 혈증시 신장내 뇨세관 상피에도 감염을 일으켜 뇨에서도 바이러스가 분리가능하다^{2,15}.

PCMV 감염증은 자돈의 위축 및 비염, 폐렴 등을 유발하여 폐사율 증가는 물론 모돈에서 유·사산이나 미이라 변성을 일으키는 등의 고질적인 번식장애로 양돈농가에 많은 피해를 주고 있다^{1,2,14~16}. 특히 감염돼지에서 순환항체가 존재할 때에도 원인 바이러스를 배출하는 잠복감염 형태가 유지되기 때문에 일단 양돈장에 유입되면 박멸하기가 매우 어려워진다^{1,12,17}. 돈사의 위생관리 수준이 취약한 돈군에서는 이 질병이 더욱 흔하게 발

생한다^{1,4}. PCMV에 감염된 돼지들은 흔히 비점막의 점액선이 파괴되기 때문에^{10,18,19} *Bordetella bronchiseptica*와 독소생산 능력을 가진 *Pasteurella multocida*들의 비점막내 정착이 조장되어^{20~22} 결국 성장장애와 높은 폐사를 일으킨다^{1,2,21}.

국내 양돈업계의 경우 PCMV 발생지역인 유럽과 미국에서의 종돈수입이 지속되고 있어서 이 질병의 국내 양돈군에 유입될 가능성이 크나 현재까지 이 질병에 대한 국내 양돈군의 감염여부는 아직껏 이루어진 바 없다.

따라서 이 연구는 이러한 실정을 감안하여 국내에서 사육되고 있는 돈군을 대상으로 PCMV에 대한 항체 보유율을 조사함으로써 이 바이러스의 유입여부는 물론 이에 대한 감염수준을 파악하여 이에 대한 대책수립의 기초자료를 얻고자 실시하였다.

재료 및 방법

검사 돼지 선발 : 1991년부터 1997년까지(1994년 제외) 6년간 경기, 강원, 충청, 전라, 경상, 제주 등 6개 지역에서 사육중인 도축돈과 사육돈을 임의로 선발하였다. 모집단의 신뢰도를 높이기 위하여 각 지역내 채혈두수는 한 양돈장 사육두수나 도축장 출하두수 100두중 5% 이내로 조정하였다. 이 시험에 사용된 검사두수는 경기 180두, 강원 30두, 전라 104두, 충청 78두, 경상 53두, 제주 36두로 총 481두이었다.

채혈 및 혈청 분리 : 선발된 돼지는 일회용 주사기로 경정맥 또는 상완정맥으로부터 5~10ml씩을 채혈하여 일정시간 정지한 다음 실험실로 옮겨와 원심분리(2,000rpm, 10분)하여 혈청을 분리한 후 비동화(56℃, 30분)시켜 검사전까지 20℃에 보관하면서 실험에 이용하였다.

양성 대조혈청은 Shirai *et al*²³의 방법에 따라 특정병원체 부재돈에 표준주인 OF-1주를 감염시켜 얻었고,

음성 대조혈청은 무균 돼지의 혈청을 이 연구에 사용하였다.

표준 바이러스와 세포주 : 배양용 세포주는 돼지 나팔관으로 부터 만들어진 19-PFT-F를 사용하였다¹¹. 세포주 증식배지로는 Eagle's minimal essential medium에 0.3% dehydrated tryptose phosphate broth, 10% 송아지 혈청, penicillin 등 몇종의 항생제를 넣어 사용하였다. PCMV의 표준균주는 일본 분리주인 OF-1주를 Kawamura *et al*¹¹이 사용한 방법대로 19-PFT-F 세포주에서 증식시켰다.

ELISA 항원 생산 : ELISA용 항원은 OF-1주를 19-PFT-F 세포주에 접종한 후 2일에서 10일 사이에 수확하였다. 세포주에는 OF-1주가 $10^{4.5}$ TCID₅₀/ml가 되도록 조정하여 접종하였고 감염 세포는 0.2% Nomidet P-40을 포함한 reticulocyte standard buffer(0.01M NaCl, 0.0015M MgCl₂, 0.01M Tris-Hcl, pH 7.4)로 실온에서 20분간 수용화시킨 다음 2,000rpm에 5분간 원심시켰다. 이후 상층액을 따로 분리하여 300nm 크기의 여과지에 통과시켜 항원으로 사용하였으며, 비감염 19-PFT-F세포 또한 전술한 방법과 똑같이 처리하여 음성 대조항원으로 사용하였다.

준비된 항원의 항원성은 PCMV에 대한 항혈청을 100배 희석하여 ELISA로 검사하였다. 이 바이러스 항원 단백질 농도는 Bio-Rad 단백질 분석 kit로 분석하여 검정하였다. 검사를 통하여 확인된 항원은 실험에 사용할 때까지 -70℃에 보관하였다.

Enzyme-linked immunosorbent assay : 기본적으로 Tajima *et al*²⁴의 방법에 따라 PCMV 항원 또는 음성 대조항원은 0.05M carbonate buffer(pH 9.6)에 희석시켜 96 마이크로플레이트의 각 구멍에 넣은 다음 4℃에서 하룻밤동안 정치하여 흡착시켰다. 흡착후 각 구멍내에 남아있는 항원은 세척용 인산화 완충액(PBS)으로 세척하여 제거한 다음, 흡수부위의 비특이적 단백질 반응을 막기 위해 25% Block Ace(Dainippin Pharmaceutical Co.)를 포함한 PBS를 각 구멍당 100μl씩 분주하여 37℃에서 60분간 전처리시켰다.

검사용 혈청은 100배에서 12,800배까지 계단희석한 후 PCMV 항원이나 음성 대조항원을 피복한 구멍(50μl/구멍)에 분주하여 37℃에서 60분간 반응시켰다.

PBS에 0.05% Tween 20을 넣은 용액을 세척액으로 마이크로플레이트의 각 구멍을 세번 씻어낸 다음, 이미 적정 희석농도를 정해 놓은 peroxidase conjugated anti-swine Ig-G rabbit(Coppel, USA)를 각 구멍당 50μl씩 분주하여

37℃에서 30분간 처리하였다. 마찬가지로 구멍에 남아 있는 반응혈청을 전술한 방법과 같이 세척해내고, 0.05 citrated buffer에 0.004% H₂O₂을 넣은 2,2'-azino-bis(2-ethylbenzthiazoline-sulfonic acid)를 기질로서 사용하였다. 다음 마이크로플레이트를 실온에서 20여분간 반응시킨 후 ELISA 자동판독기(Molecular Devices Corp, USA)를 이용 405nm에서 판독하였다. 결과는 정상항원을 피복한 마이크로플레이트 각 구멍의 흡수율에서 PCMV 항원이 피복된 각 구멍의 흡수율을 뺀 값으로 이 흡수율이 0.1 보다 높은 경우를 양성으로 판정하였다.

결 과

혈청의 적정희석 배수 측정 : 항원과 conjugate는 우수한 반응을 보인 희석배수인 1,000배로 각각 희석하고, 양성 및 음성혈청은 1:20배부터 계단희석하여 검사한 결과, 양성혈청은 40,960배까지 희석하여도 1:20배로 희석한 음성혈청의 OD치와 비슷한 값을 나타내었다.

양성혈청에서는 1:2,560배에서도 1.0 이상의 OD치를 보여 육안으로도 확인이 가능하였다. 또한 혈청 희석배수 400배 이하에서는 PCMV 양성혈청의 비특이 반응이 어느정도 인정되므로 혈청 희석배수 800 이상을 PCMV 항체양성으로 판단하였다.

혈청학적 검사 : 국내에서 사육중인 돈군에 대한 PCMV 항체검사 결과 총 481두중 367두인 76.3%에서 검출되어 국내 사육돈군들은 이미 PCMV에 대하여 매우 높은 수준의 감염수준을 보이고 있었다.

PCMV에 대한 항체 역가별 분포는 높은 보유수준인 3,200배 이상이 58.6%로서 검사두수의 다수를 차지하고 있었다. 이 중에서도 12,800배 이상이 26.8%로서 국내 PCMV의 감염돈군중 4분의 1 이상이 매우 높은 항체 감염수준을 보이고 있었다(Table 1).

국내 사육돈군내 PCMV 양성돈의 연령별 분포는 6개월령 이상에서 87.4%(76/87)로 가장 높게 나타났고, 2-6개월령 사이가 73.9%(238/322), 2개월령 이하는 73.6%(53/72)이었다. 자돈과 비육돈군의 연령에서는 평균 73.8%를 보여 이들 돈군간의 큰 차이는 없었다.

지역별 항체분포는 충청이 89.7%(70/78)로 가장 높게 나타났고 다음으로 전라지역이 79.8%(83/104), 경기와 경상지역이 각각 79.4%(143/180)이었고 경상지역이 79.3%(42/53), 강원지역이 50%(15/30)의 순이었고, 제주지역

Table 1. Distribution of porcine cytomegalovirus-antibody in 481 pigs in Korea

District	Antibody titer						Total
	≤400	800	1,600	3,200	6,400	≥12,800	
Gyeonggi	37	15	16	32	41	39	180
Kangwon	15	5	7	1	1	1	30
Chungchong	8	1	4	14	12	39	78
Cholla	21	11	10	19	16	27	104
Gyongsang	11	2	6	7	4	23	53
Cheju	22	7	1	3	3	0	36
Total(%)	114(23.7)	41(8.5)	44(9.2)	76(15.8)	77(16.0)	129(26.8)	481(100)

이 38.9%(14/36)로 가장 낮았다.

연도별 PCMV 항체양성률은 94년을 제외한 91년부터 97년까지의 평균 돼지 감염률은 77.5%로 측정되었다. 91년의 경우 90.2%(37/41)로 가장 높은 양성률을 보였고 이어 95년에 84.3%(75/89), 92년에 83.3%(25/30), 96년도에 81.8%(80/99), 97년 71.4%(120/168), 93년 53.7%(29/54)의 순이었다. 이 결과로 최소한 1991년 이전에 이미 PCMV는 국내 돈군에 유입되었음이 확인되었다.

고 찰

PCMV 감염증은 우리나라의 주요한 중돈 수입국인 영국³을 비롯하여 스페인¹⁹, 체코⁹ 등 유럽지역과 캐나다²⁵, 멕시코²⁶, 아르헨티나²⁷ 등 미주지역, 아시아권의 중요한 양돈국인 대만²⁸ 그리고 우리와 가장 가까운 곳에 위치하고 있으며 돈육 수출대상국인 일본²⁹에서도 발생이 보고되어 있다.

최근 양돈단지의 신설과 함께 양돈이 전업화 및 대규모화 되고 있으며 PCMV 발생국으로 부터의 중돈수입이 매년 늘어나고 있어 국내 돈군내 PCMV의 유입 가능성은 높아지고 있다. 이 바이러스 감염증은 비염과 유사산의 직접적인 피해는 물론 아무런 증상없이 돈군내 잠복하고 있다가 외부의 스트레스 등 체내 면역조건의 악화시 재발^{1,14}할 수 있으므로 PCMV의 국내 돈군내 감염여부를 확인하는 것은 국내의 양돈 생산성 향상을 위하여

필요한 연구라 판단되었다.

본 연구는 국내 양돈장에서 출하되는 비육돈을 포함하여 사육중인 모든 돼지를 대상으로 PCMV의 항체보유 여부를 확인하고자 최근 광범위하게 사용되고 있는 집단 혈청검사법인 ELISA^{24,30,31}를 활용하였다. 이 연구에 ELISA를 활용한 까닭은 Assaf *et al*³¹이 PCMV를 확인하는데 있어 간접형광항체법과 유사한 수준의 민감성과 특이성을 ELISA가 갖고 있다고 보고하였고, 최근 일본의 Tajima *et al*^{24,30}도 ELISA와 간접형광항체법 및 중화항체법과의 검색률을 비교한 바 ELISA가 중화항체법보다 민감성이 우수하고 간접형광항체법에 비금가는 우수한 집단 혈청검사법으로 확인한 바 있었기 때문이다. 또한 PCMV의 검출을 위한 투과전자현미경을 이용한 음성대조 염색법^{8,32,33}이나 바이러스의 분리동정법³⁴이 알려져 있으나 시간과 비용은 물론 특수장비나 기술력이 필요하여 집단 건강검사법으로 활용하는데 한계가 있어서 본 연구에서는 보다 간편하고 유용한 ELISA를 적용하였다. 이 실험은 주로 Tajima *et al*^{24,30}의 방법을 활용하여 PCMV 양성혈청은 800배 이상의 희석배수로 잡아 비특이반응을 줄이고자 하였다.

이 실험결과 전라도를 비롯한 국내 6개 권역에서 지난 91년부터 97년까지 사육했던 481두중 76.3%에서 PCMV에 대한 항체를 보유중임이 국내 최초로 확인되었다. 일본의 경우는 PCMV 감염률이 99.4%(1993년)²⁴로 소수의 특정병원체 부재돈군을 제외한 거의 모든 돈군내 PCMV의

감염을 보이고 있는데 비하면 우리 국내 사육돈군의 발생비율은 낮다. 그러나 실제 국내 돈군의 4분의 3 이상이 이미 PCMV에 감염되어 있다는 점에서 상재성 병원체로서 고착화 되어 있다고 볼 수 있고 따라서 돈군내 감염환을 단절시키는 대책마련이 시급하다 하겠다. 더구나 항체역가가 256배 이상인 돼지가 26.8%나 검색됨으로서 PCMV의 돈군내 전파가 지속되고 있을 뿐만 아니라 반복적인 감염상황이라는 주장이 가능하다.

PCMV에 대한 국내 지역별 감염상황은 충청지역(89.7%)이 조사된 다른 지역에 비해 다소 높았을 뿐 전라(79.8%), 경기(79.4%), 경상(79.3%) 지역 등과 유의한 차이는 없었다. 이는 검사 모집단의 숫자가 6개년동안 수집된 재료라는 점에서 숫적으로 적은데다가 지역별 조사두수의 편차가 크다는 점에서 특별한 의의를 찾을 수 없었다. 그러나 이 결과는 국내 사육두수의 대다수가 사육되고 있는 제주를 제외한 남한지역 돈군내 PCMV 감염률이 평균 82.1%로 매우 높다는 점에서 이 바이러스의 전국적인 편재성을 확인할 수 있었다. 제주의 낮은 감염율(38.9%)은 다른 지역에 비해 종돈의 수입이 비교적 적은데다가 지리적인 차단조건과 관련이 있는 것으로 보인다.

이 조사의 대상 돼지중 PCMV에 대한 감염수준이 모돈이나 웅돈군이 포함된 6개월령 이상의 돼지들은 87.4%로 6개월령 이하의 73.8% 보다 높았다. 이러한 결과는 이 바이러스가 정액과 태반을 통한 전파가 이루어질 수 있어 국내 돈군내 PCMV의 중요한 보독돈들은 모돈이나 웅돈에서 유래될 수 있다고 여겨진다.

PCMV에 의한 태반감염은 모돈의 임신 전기간에 걸쳐 일어날 수 있으나 가장 흔한 감염시기는 임신 30일 이내보다도 중기와 말기에 더 빈발하는 경향이 있다^{1,2,15,35}. 태자의 30% 정도가 임신 후반 3분의 2시기에 감염을 일으키고 있다^{1,15,35}. PCMV는 한 모돈의 자궁내 태자중 임의적으로 감염을 일으키므로 감염태자, 비감염태자, 사산태자, 미이라 변성태자 등이 나타날 수 있다^{1,13,15}. 따라서 국내 돈군내 PCMV의 감염실태가 상재화 되어 있다는 이 조사의 성적을 감안해볼 때 앞으로 지속적인 호흡기 질병이나 유사산의 발생시¹⁵ 지금까지 이미 국내에서 발생하고 있는 것으로 알려진 호흡기 병원체 감별진단에 PCMV를 고려해야할 것으로 판단된다. 특히 돈군내 장액성 비염^{10,12}이 자주 나타나고, 자돈의 경우 쇠약과 경미한 호흡기 증상과 더불어 흉수, 심낭액, 폐 간질의

현저한 부종과 비점막의 발적이 나타나고 조직학적 병변으로는 비화농성 뇌염과 비점막에서 거대세포내 커다란 호염기성 핵내 봉입체를 관찰³⁵하는 병리학적 진단을 시도하여야 한다.

PCMV에 의한 바이러스 혈증은 선천성으로 혹은 신생아돈에 감염될 경우 모돈보다 훨씬 더 빨리 나타나고 동시에 바이러스 배출기간도 감염후 50일까지 나타날 수 있다^{12,13,16}. PCMV는 폐의 대식세포내에서 잠복 감염상태로 있다가 이들 개체에 corticosteroid 등과 같은 면역억제 약제를 투여하면 바로 바이러스의 배출이 다시 이루어지기도 한다³⁷. 이들 바이러스에 대한 항체가 감염후 3주째 형광항체법으로 검출되는 것으로 보아 바이러스의 배출은 모체이행항체나 능동면역에 의한 항체가 있어도 발생할 수 있다³⁰. 이러한 PCMV의 특징은 가벼운 비염의 발생후 독소생산성 *Pasteurella multocida*를 비롯한 주요한 세균성 병원체는 물론 오제스키병 바이러스나 돼지 생식기 및 호흡기중후군 바이러스 같은 바이러스들과의 속발성 감염^{21,22}에 의한 혼합감염이 야외상황에서 발생할 수 있음을 시사하고 있어 이에 대한 구체적인 연구가 향후 이루어져야 할 것이다. 이와 함께 속히 밝혀져야 할 부분으로는 국내 돈군내 PCMV의 임상형을 찾아내어 국내 분리주를 확보하는 일로서 이를 근거로 백신 등 방역수단을 강구할 수 있어야 할 것으로 보인다.

역학상 PCMV의 국내 유입을 확인키 위해 '91년부터 확보된 혈청을 조사하여 본 바 '91년도의 사육되었던 돼지들도 이미 90.2%나 감염되어 있었다. 따라서 국내 돈군내 PCMV의 유입시기는 최소한 '91년 이전인 것으로 확인할 수 있었고 '94년도의 혈청은 조사할 수 없었으나 '92년부터 '97년도 사이의 돼지들 역시 53.7~83.3%까지 높은 감염수준을 나타내고 있어 이 병원체의 편재성을 입증할 수 있었다. 결국 앞으로 이 병원체의 병원성과 감염형태의 규명이 체계적으로 이루어질 때 보다 근본적인 이 감염과 질병의 차단은 물론 차후 예상되는 그 피해를 최소화 할 수 있다고 본다.

결 론

국내 양돈장에서 91년부터 97년도 사이에 사육되었던 돼지를 대상으로 ELISA를 이용하여 PCMV에 대한 항체 유무를 조사하였다.

총 481두의 검사두수중 367두인 76.3%에서 PCMV 항체를 보유하고 있었고 이로 인해 국내 돈군내 최초의 PCMV 감염을 확인할 수 있었다. PCMV에 대한 항체 역가수준은 800배가 41두(8.5%), 1,600배가 44두(9.2%), 3,200배가 76두(15.8%), 6,400배가 77두(16.0%)이었고, 특히 12,800배 이상도 129두(26.8%)나 되었다.

연령별 PCMV 감염률은 6개월령 이상의 돈군이 87.4%이었고, 2개월령 이하와 2~6개월령 사이는 평균 73.8%의 감염률을 보여 국내 양돈장의 대다수 돈군내 PCMV 감염환이 정착되어 있음을 확인되었다.

지역별 PCMV 감염률은 충청이 89.7%(70/78)로 가장 높게 나타났고 다음으로 전라 79.8%(83/104), 경기 79.4%(143/180), 경상 79.3%(42/53), 강원 50%(15/30) 순이었고 제주지역이 38.9%(14/36)로 가장 낮게 나타나 국내 돈군내 PCMV 감염이 전국적인 분포를 보였다.

연도별 PCMV 항체양성률은 91년이 90.2%(37/41)로 가장 높았고, 92년 83.3%(25/30), 93년 53.7%(29/54), 95년 84.3%(75/89), 96년 81.8%(81/99), 97년 71.4%(120/168)를 보여 PCMV의 국내 유입은 최소한 1991년 이전에 이루어졌고, 현재 이 바이러스는 국내 돈군내 상재화 되어 있음이 밝혀졌다.

참 고 문 헌

1. Edington N. Porcine cytomegalovirus infection. pp. 271-277. In: Disease of Swine, 5th ed. (Leman AD, Glock RD, Mengeling WL, Penny RHC, Scholl E and Straw B.), The Iowa state Univ. Press, Iowa. 1981.
2. Edington N, Plowright W, Watt RG. Generalized cytomegalic inclusion disease; Distribution of cytomegalic cells and virus. *J Comp Pathol*, 86:191-202, 1976c.
3. Done JT. An "Inclusion body" rhinitis of pigs (Preliminary Report). *Vet Rec*, 67:525-528, 1955.
4. Cameron-Stephen ID. Inclusion body rhinitis of swine. *Aust Vet J*, 37:87-91, 1961.
5. Booth JC, Goodwin RFW, Whittlestone P. Inclusion body rhinitis of pigs. Attempts to grow the causal agent in tissue cultures. *Res Vet Sci*, 8:338-345, 1967.
6. Yoshikawa T, Yoshikawa H, Oyamada T, et al. Immune-comple glomerulonephritis associated with por-

- cine cytomegalovirus infection. *Proc 10th Int Congr Pig Vet Soc*, Rio de Janeiro, Brazil, 245, 1988.
7. Rose RF, Switzer WP, Mare CJ. Incidence of certain microorganisms in Iowa swine. *Vet Med*, 58:156-159, 1963.
8. Valicek L, Smid B, Mensik J. Electron microscopy of porcine cytomegalovirus. *Arch Gesamte Virusforsch*, 41:344-353, 1973.
9. Valicek L, Smid B, Cada F, et al. Porcine cytomegalovirus. Circulation of the virus in the Czech Republic. *Veterinarstvi*, 44:259-261, 1994.
10. Corner AH, Mitchell D, Julian RJ, et al. A generalized disease in piglets associated with the presence of cytomegalic inclusions. *J Comp Path*, 74:192-199, 1964.
11. Kawamura H, Tajima T, Hironao T, et al. Replication of porcine cytomegalovirus in the 19-PFT cell line. *J Vet Med Sci*, 64:1209-1211. 1992
12. Plowright W, Edington N, Watt RG. The behaviour of porcine cytomegalovirus in commercial pig herds. *J Hyg*, 76:125-135, 1976.
13. Edington N, Watt RG, Plowright W. Cytomegalovirus excretion in gnotobiotic pigs. *J Hyg*, 77:283-290, 1976b.
14. Yoshikawa T, Hanada T. Pathology of cytomegalic inclusion body disease in swine. *Jpn J Vet Sci*, 39:47-58, 1977.
15. Wilson RW, Carman PS. Abortions and stillbirths associated with generalized cytomegalovirus infection in a swine herd. *Can Vet J*, 32:370, 1991.
16. Lecuyer C, Corner A, Randall G. Porcine cytomegalic inclusion disease; Transplacental transmission. Proc 2nd Int Congr Pig Vet Soc, Hannover, Germany, p99, 1972.
17. Edington N, Watt RG, Plowright W, et al. Experimental transmission of porcine cytomegalovirus. *J Hyg*, 78:243-251, 1977.
18. Watt RG, Plowright W, Sabo A, et al. A sensitive system for the virus of porcine inclusion body rhinitis (cytomegalic inclusion disease). *Res Vet Sci*, 14:119-121, 1973.

19. Bernabe A, Gomez S, Navarro JA, *et al.* Post mortem study of an outbreak of inclusion body rhinitis in piglets in the Murcia region. *Medicina-Veterinaria* , 7: 287-291, 1990.
20. Kawamura H. Porcine cytomegalovirus infection. *J Jap Vet Med Assoc* , 44:987-991, 1991.
21. Rutter JM. Virulence of *Pasteurella multocida* in atrophic rhinitis of gnotobiotic pigs infected with *Bordetella bronchiseptica*. *Res Vet Sci* , 34:287-295, 1983.
22. Edington N, Smith IM, Plowright W, *et al.* Relationship of porcine cytomegalovirus and *B bronchiseptica* to atrophic rhinitis in gnotobiotic piglets. *Vet Res* , 98:42-45, 1976a.
23. Shirai J, Narita M, Iijima Y, *et al.* A cytomegalovirus isolated from swine testicle cell culture. *Jpn J Vet Sci* , 47:697-703, 1985.
24. Tajima T, Hironao T, Kajikawa T, *et al.* Application of enzyme linked immunosorbent assay for the seroepizootiological survey of antibodies against porcine cytomegalovirus. *J Vet Med Sci* , 55:3, 420-424, 1993.
25. Harding JD. Inclusion body rhinitis of swine in Maryland. *Am J Vet Res* , 19:907-912, 1985.
26. Marquez M, Trigo T, Monroy B. First report of inclusion body rhinitis from Mexico. *Vet Mexico* , 17: 199-201, 1986.
27. Gonzalez-Quintana H, Larriestra A, Yaciuk R, *et al.* Porcine cytomegalovirus. First report from Argentina. *Veterinaria Argentina* , 5:848-850, 1988.
28. Yang SY, Lu YS, Li NU, *et al.* First report of porcine cytomegalovirus infection in Taiwan. *J Chi Soc Vet Sci* , 14:57-63, 1988.
29. Konno S, Fujiwara H, Koeda T. Inclusion body rhinitis of swine occurring in Japan. *Ntl Inst Anim Hlth Q Jpn* , 12:89-94, 1972.
30. Tajima T, Hironao T, Kajikawa T, *et al.* Detection of antibodies against porcine cytomegalovirus from whole blood collected on the blood sampling paper. *J Vet Med Sci* , 56:189-190, 1994.
31. Assaf R, Bouillant AMP, DiFranco E. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to porcine cytomegalovirus. *Can J Comp Med* , 46:183-185, 1982.
32. Scott AC, Lamont PH, Chapman MS, *et al.* Electron microscopy in the rapid diagnosis of inclusion-body rhinitis of pigs. *Vet Rec* , 93:127-128, 1973.
33. Yoshikawa T, Hanada T, Yoshikawa H. An electron microscope study of cytomegalic inclusion body disease in swine. *Kitasato Arch Exp Med* , 53:43-54, 1980.
34. Taguchi M, Matsui G, Yabuki Y, *et al.* Isolation of porcine cytomegalovirus from pigs with inclusion body rhinitis. *J Jpn Vet Med Assoc* , 38:792-796, 1985.
35. Dee SA. Viral causes of porcine reproductive failure. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*. 17:9, 1159-1162, 1164-1170, 1995.
36. Done JT. Inclusion body rhinitis of swine, nasal scrapings as an aid to diagnosis. *Vet Rec* , 70:877-878, 1958.
37. Ben-Porat T, DeMarchi JM, Lomniczi B, *et al.* Role of glycoprotein of pseudorabies virus in eliciting neutralizing antibodies. *Virology* , 154:325-334, 1986.