

국내분리 오제스키병 바이러스로 비강접종한 야생집쥐(*Rattus norvegicus*)의 병리학적 소견 및 *in situ* hybridization에 의한 바이러스 동정

송근석 · 문운경* · 정창근** · 김순복**

유한양행 중앙연구소 · 농림부 국립수의과학검역원*
경상대학교 수의과대학 동물의학연구소**
(1998년 10월 17일 접수)

Histopathological observations and virus detection by *in situ* hybridization in wild rats intranasally infected with Aujeszky's disease virus isolated in Korea

Geun-seok Song, Oun-kyong Moon*, Chang-geun Jeong**, Soon-bok Kim**

Yuhan Research Center

*National Veterinary Research And Quarantine Service. MAF**

*Institute of Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University***

(Received Oct 17, 1998)

Abstract : The present study was carried out to investigate the pathogenicity and pathogenesis of wild rats(*Rattus norvegicus*), trapped in nature, intranasally infected with Aujeszky's disease virus(ADV/NYJ-1-87) by histopathology, immunohistochemistry and *in situ* hybridization(ISH).

Fifteen rats inoculated intranasally were roughened haircoat, anorexia, listlessness, and depression second day after inoculation, and three rats died in 66-72 hours. Eight rats showed severe pruritus at the face that was accompanied by frequent face-washing movements of the forelegs, and then became violent and spasmodic for an hour or until they died. Four rats slowly recovered after showing mild clinical signs of the disease.

Microscopic lesions in infected rats were characterized by meningitis, perivascular round cell infiltration, focal gliosis, and neuronal degeneration and necrosis. And intranuclear inclusion bodies were frequently detected in the cerebral cortex and medulla.

Positive reaction to ADV by immunohistochemistry and ISH were detected in the following areas : trigeminal ganglion, brain, tonsil, nasal mucosa, spleen, lung and liver. The result has suggested that ADV intranasally infected in wild rats is followed by replication in epithelial cells of nasal mucosa and tonsil, then invade local lymph nodes by way of the lymphatics. It is also

believed that the virus invades bipolar olfactory cells and trigeminal ganglion, and then spread into central nervous system.

Key words : pathology, immunohistochemistry, *in situ* hybridization, Aujeszky's disease, wild rats.

서 론

오제스키병은 국내에서 1987년 경남 양산지역에서 처음 발생된 이래 계속 확산되다가 현재 경기 및 충남 일부지역에서 산발적으로 발생하고 있으며 소, 양, 개, 고양이, 토끼 등 여러 온혈동물에 감염하여 심한 가려움증과 경련, 마비 등의 주요 신경증상을 나타낸 후 결국 폐사하게 된다¹⁻³.

오제스키병은 일반적으로 돼지가 중요한 전파매개체인 것으로 알려져 있으나 야생설치류 또한 이 병을 전파하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려지고 있다^{4,5}.

1935년 Shope⁶은 옥수수 창고와 축사에 서식하는 brown rats가 Aujeszky's disease virus(ADV)에 비강과 구강을 통해 쉽게 감염될 수 있다고 보고하였으며 개, 고양이, 돼지가 감염된 쥐를 먹음으로써 감염된다고 하였고 1942년 Cassells과 Lamont⁷ 그리고 1950년 Lamont과 Gordon⁸은 농장에서 ADV 감염으로 죽은 집쥐에 의한 개의 감염을 보고한 바 있다. 그러나 실험용 랫드와 마우스에 대한 ADV 접종실험 결과만 보고되어 있을 뿐 농장 주위에서 흔히 서식하는 야생집쥐의 ADV에 대한 병원성이나 발생기전에 대해 보고된 것은 찾아볼 수 없을 뿐만 아니라 실험동물용 랫드가 ADV의 보균자로서 많은 증거가 있음에도 불구하고 야생집쥐에 대한 연구가 부족한 실정이다⁹.

본 연구는 국내분리주인 ADV를 야생집쥐의 비강내 접종하여 임상증상 및 병리조직학적 소견을 관찰하고 면역조직학적 및 *in situ* hybridization 기법을 이용하여 바이러스 감염조직과 세포를 관찰함으로써 병리발생기전을 규명코자 하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 경남 중부지역에서 주로 서식하는 야생집쥐(*Rattus norvegicus*)를 포획하여 총 20마리중 15마리를 ADV 접종군으로, 나머지 5마리를 대조군으로 나누어 외부와 격리된 곳에서 물과 사료를 자유로이 공급하면서 사용하였다.

바이러스 배양 및 접종 : 5% 송아지 혈청이 첨가된 minimum essential medium 배지에 porcine kidney-15(PK-15) cell의 monolayer가 70~80% 정도 형성되도록 배양한 후에 국내 ADV 분리주인 NYJ-1-87주를 1ml 접종하였으며 세포변형효과가 진행되는 6시간째 배양액을 수확하였다. 이러한 방법으로 3세대 증식시켜 역가가 1×10^7 TCID₅₀/0.2 ml의 바이러스액을 -70℃에 저장하면서 접종액으로 사용하였다. 야생상태에서 포획한 집쥐 15마리에 ADV 접종액을 마이크로 피펫으로 마리당 15μl씩 비강접종하였다.

병리학적 검사 : ADV를 접종한 야생집쥐 일정기간 임상증상을 관찰하였고 폐사한 경우 해부하였으며 중추신경계, 삼차신경절, 편도, 폐, 심장, 간, 비장, 신장 등을 채취하여 10% 중성포르말린에 12~24시간 고정시킨 뒤 파라핀 포매하여 34μm 두께로 세절하였으며 같은 부위를 연속절편하여 헤마톡실린과 에오진염색 및 면역염색을 병행 실시하여 결과를 비교 관찰하였다.

면역조직화학적 검사¹⁰ : 폐사한 야생집쥐의 각 장기의 조직절편들을 탈파라핀시킨 후 흡수과정을 거친 다음 내인성 peroxidase에 대한 비특이반응을 줄이기 위해 3% 과산화수소수-메탄올 용액에 10분간 전처리한 다음 각 단계별 항체 처리과정시 0.1M sodium phosphate buffer (PB)에 15분간 3회씩 수세를 실시하며 항체 희석액으로 0.1M PB에 1% normal goat serum(Sigma)과 0.3% Triton X-100(Sigma)를 사용하여 먼저 1차 항체인 polyclonal rabbit anti-ADV(Dr. Card, Univ. of Pittsburg, USA)를 1 : 10,000으로 희석하여 60분간 반응시켰고 2차 항체는 1 : 200으로 희석된 biotinylated goat anti-rabbit IgG(Vectastain)에 실은

에서 한시간 가량 반응시킨 후 peroxidase가 표지된 avidin-biotin complex(ABC) 용액으로 처리하여 실온에서 한시간 가량 반응시킨 다음 20mg의 3-3' diaminobenzidine를 150ml의 0.1M PB에 녹인 용액에서 약 5분간 반응시킨 후 20µl의 과산화수소수를 첨가하여 발색시켰다. 일부는 헤마톡실린으로 대조염색하여 통상적인 방법에 따라 에탄올 탈수와 키실렌 투명을 거친 후 카나다발삼으로 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다. 면역염색은 수분 증발을 막기 위하여 실온에서 습도유지상자내에서 반응시켰고 대조로서 1차 항체 대신 0.1M PB로 반응시킨 감염조직과 정상조직을 비교 관찰하였다.

In situ hybridization : Polymerase chain reaction(PCR)를 이용하여 Probe ADV DNA를 제작하였다^{11,12}. Template DNA는 plasmid pBR 325내에 cloning 된 6.3Kb 크기의 BamHI 7 fragment(gp50, gp63, gl : Dr. Osorio, Nebraska Univ.)를 사용하였으며, primer는 gp50의 conserved sequence를 이용하여 한국생명공학연구소에 의뢰 제작(primer length : 21-mer, target length : 217-mer)하였다. PCR kit의 protocol에 따라 10X buffer 10µl, ADV/DNA 4µl, dNTPs(A, T, G, C) 각 2µl씩, primer(foward primer : 5'CACGGAGGACGAGCTGGGGCT3', 5µl ; reverse primer : 5'GTCCACGCCCGCTTG-AAGCT3', 5µl) 10µl, taq polymerase 0.5µl 그리고 dH₂O 67.5µl를 전체용량이 100µl가 되도록 혼합한 다음 PCR를 실시하였다. gp50 ADV 증폭기는 94℃에서 1분간 변성시켰고 55℃에서 1분간 annealing 하였으며 72℃에서 1분간 polymerase시켜 한 cycle당 3분씩 모두 30 cycle 증폭시켰으며 1.5% LMP agarose에서 전기영동하여 증폭된 217bp band를 확인한 다음 gene clean kit로 분리한 다음 이것을 DNA probe로 사용하였다.

Digoxigenin DNA labeling을 위하여 100℃에서 10분간 변성시킨 probe DNA 10µl를 얼음 위에서 잘 섞은 다음 37℃에서 20시간 방치하였다. 다음으로 반응정지액으로 0.2M EDTA(pH8.0) 2µl를 첨가하여 반응을 중단시킨 후 4M LiCl 2.5µl, -20℃로 미리 냉각시킨 에탄올 75µl를 넣고 -20℃에서 2시간 방치하여 labeled DNA를 침전시킨 다음 12,000g에서 20분간 원심하여 얻은 pellet를 70% 찬 에탄올로 수세하고 진공건조후 TE 완충액 50µl에 다시 녹였다.

Hybridization을 위한 효소전처리과정으로서 5µm 두께로 제작된 파라핀절편을 먼저 키실렌에서 탈파라핀한 다음 100% 에탄올에 이행 건조하여 PBS에서 5분간 침

전하였다. 단백질을 제거를 위하여 실온에서 20분간 0.2N HCl에 처리후 proteinase K(40µl/ml, Sigma)로 PBS에서 37℃ 분간 소화시킨 다음 4% paraformaldehyde에 1분간 재고정하여 PBS 3회 수세후 에탄올로 이행 탈수건조하였다. Hybridization을 위하여 hybridization buffer(5XSSC, 1% 차단액, 0.1% N-lauroylsarcosine, 0.02% SDS, 50% formamide)를 -20℃ 저장하면서 사용직전에 녹여 labeled ADV-DNA probe와 20-50배가 되도록 희석하여 조직절편 위에 한방울씩 떨어뜨린 다음 coverglass로 덮어 메니큐어로 밀봉하였다. 이 슬라이드를 100℃에서 10분간 변성시킨 후 10분간 냉각하는 과정을 2회 반복한 다음 100℃에서 한번 더 변성시켜 42℃ 습도유지상자내에서 12-20시간동안 hybridization 시켰으며, 이어 커버글라스를 제거하고 PBS로 수세하였다. 항체결합을 위하여 슬라이드를 buffer 1(0.1M maleic acid, 0.16M NaCl, pH 7.5, 20℃) 용액에 1분간 수세하고 buffer 2(blocking stock solution, 10배 buffer 1에 희석) 용액에 30분간 처리한 후 polyclonal sheep anti-digoxigenin Fab fragment conjugated to alkaline phosphatase를 buffer 2에다 1 : 1000으로 희석하여 실온에서 40분간 감작시켰다. 이어 buffer 1에서 15분간씩 2회, buffer 3(100mM tris-HCl, 50mM MgCl₂, pH 9.5, 20℃)에서 2분간 수세한 뒤 발색액(NTB solution 45ul, X-phosphate solution 45ul, buffer 310ml)으로 암실에서 6-7시간 발색하였다. Buffer 4(10mM tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0, 20℃)에 5분간 수세후 methyl green chloroform으로 20-30분간 대조염색한 다음 증류수로 1-2분간 수세후 습성 봉입을 하였다.

결 과

임상증상 : 접종된 집쥐 15마리 대부분은 접종후 48-55 시간째부터 피모가 거칠어지고 식욕부진 운동량이 감소하며 침울한 증상을 보이다가 3마리는 66-72시간째 폐사하였고 8마리는 심한 기침과 콧물을 흘리며 안면부에 소양감을 보이다가 96시간째 폐사하였다. 그리고 일부 임상증상을 보이던 나머지 4마리는 서서히 회복하여 접종 10일 이후에는 임상적으로 완전히 정상상태로 회복하였고 반면 대조군에서는 별다른 임상증상이 관찰되지 않았다.

병리조직학적 소견 : 접종한 집쥐의 중추신경계에서 신경세포 변성, 신경세포식 현상, 위관형 섬유세포 침윤,

교세포 증가증 등의 경미한 뇌염소견을 볼 수 있었다. 그리고 특유의 호산성 핵내 봉입체가 주로 연수의 신경절 부위와 대뇌피질 부위에서 빈번히 관찰되었다. 편도에서는 상피세포와 림프조직에서 피사가 관찰되었고 폐에서는 충출혈, 간질성 림프구 침윤, 세기관지 상피세포의 피사 및 탈락, 림프소절내 림프구 피사를 볼 수 있었으며 비장과 간장에서는 한국성 피사소가 관찰되었다. 이들 피사소 주위에는 호산성 핵내 봉입체 및 염증세포들이 다수 침윤해 있었다.

ABC 염색 및 ISH 소견 : 파라핀 조직절편에서 균체항원을 검출하기 위해 ABC 염색 및 ISH를 실시한 결과 중추신경계, 편도, 폐, 간, 비장 등에서 주로 면역염색의 바이러스 항원 양성반응이 관찰되었고, ISH의 바이러스 핵산 양성반응은 주로 중추신경계의 종뇌, 수뇌, 척수 및 삼차신경절에서 흔히 나타났다(Figs 1~4). 편도에서는 주로 상피세포에서 양성반응을 관찰할 수 있었으며 폐, 간, 비장 등에서는 주로 대식세포에서 강한 갈색의 양성반응을 관찰할 수 있었다. 특히 비장에서는 적색수내 대식세포에서 양성반응이 빈번하게 나타났으며 폐에서는 세기관지 탈락상피세포에서 갈색의 양성반응을 관찰할 수 있었다.

고 찰

Fraser *et al*⁹과 Lamont *et al*⁸은 야생설치류가 오제스키병의 전파에 중요한 역할을 하는데 감염된 집쥐를 먹은 돼지는 물론 개, 고양이에서도 발생이 가능하고 오제스키병이 발생한 농가에서 포획한 집쥐의 뇌조직에서 바이러스를 분리한 바 있다. Shope⁶은 이환된 집쥐를 먹은 돼지가 오제스키병에 감염되며 감염된 돼지는 비즙을 통해 바이러스를 배설하여 소에게 전파시키고 다른 쥐들이 죽은 소를 섭취하므로써서 감염 확산된다고 하였다. 이와같이 집쥐는 오제스키병의 전파에 매우 중요한 역할을 하지만 아직까지 집쥐에 대한 ADV의 기병성이나 발생이전에 관해서는 실험용 랫드의 일부 성적외에는 거의 알려진 것이 없는 실정이다³.

ADV에 대한 급성감염된 랫드는 육안적으로 별다른 소견을 보이지 않으나 현미경하에서 주로 중추신경계에 신경세포 피사, 위관형 원형세포침윤, 교세포 증가증 등의 뇌염소견을 보인다². 본 실험에서는 기존의 성적들에 비해 비교적 경미한 정도의 뇌염소견이 관찰되었으며

이는 집쥐와 실험용 랫드와의 감수성의 차이에서 오는 결과라고 생각된다. 그리고 봉입체는 대뇌피질 및 후뇌의 연수부위에서는 빈번하게 관찰되었으며 돼지, 양 및 소 등에서 관찰되는 부위와는 다소 상이하였다^{9,13}.

Masic *et al*¹⁴이 보고한 바에 따르면 돼지는 자연상태에서 바이러스가 편도상피세포에서 일차증식하여 부속 입파절로 입파성 전이를 하며 입파절에서 증식한 다음 이후신경, 삼차신경 및 후각신경 등의 말초신경을 따라 중추신경계로 이동한다고 하였다. 그리고 Shope¹⁵은 비강과 구강으로 흡입된 바이러스는 상부기도에서 일차증식하여 감염 18시간째 후각상피세포와 편도에서 분리되고 24시간째 후각망울에서 분리되며 같은 시간대에 비강과 구강에 분포하는 삼차신경을 통해 이동한 바이러스가 연수와 교뇌에서 분리된다고 하였다. 본 실험에서도 ABC 염색 및 ISH 방법에 의한 바이러스 항원 및 핵산이 동일한 부위에서 검출된 것으로 보아 야생집쥐에서도 바이러스 침입경로는 돼지와 비슷한 것으로 생각된다. 그렇지만 바이러스의 항원 양성반응이 집쥐에서는 삼차신경절과 삼차신경절 기시부인 교뇌부위 및 연수 등에서 더욱 강하게 나타나는 것으로 보아 중추신경계로의 주이동로는 삼차신경이라고 생각된다. 1990년 Card *et al*³은 ADV Bartha 주를 랫드의 위복벽 부위에 접종하여 중추신경계의 병리조직학적 소견을 보고한 바 있으며 본 실험에서도 수뇌와 교뇌의 삼차신경척수로와 삼차신경척수핵에서 바이러스 항원 및 핵산 양성반응이 주로 관찰되어 중추신경계내의 이동경로는 서로 일치함을 알 수 있었다¹⁶.

병원성이 높은 ADV는 감염후에 바이러스혈증을 일으키며 주로 폐포의 대식세포, 세기관지의 상피세포, 간세포 및 비장의 림프세포 등에서 바이러스가 분리된다고 보고되어 있으며, 박 등¹⁷은 ADV/NYJ-1-87주는 돼지에서 바이러스 혈증을 일으키지 않는다고 보고하고 있으나 본 실험에서는 같은 부위에서 바이러스 항원과 핵산이 검출되는 것으로 보아 바이러스 혈증을 일으킬 수 있는 강독주로 추정된다. Fraser와 Ramachandran⁹은 감염시킨 랫드의 뇌와 폐에서 바이러스를 분리할 수 있었다고 하였으나 본 실험의 면역염색에서는 간 및 비장에서도 항원이 검출되었다. 이는 바이러스의 병원성이나 실험동물의 감수성 차이에서 오는 결과라고 볼 수도 있으나 한편으로는 면역염색법의 민감도가 바이러스 분리방법보다 우수하다고 해석할 수도 있을 것이다.

김과 강 등¹⁸은 국내에서 서식하는 야생집쥐를 전국에서 채취하여 외형 및 형태학적 특징에 따라 분류해본 결과 국내 집쥐 점유종은 *Rattus norvegicus* 라고 보고한 바 있다. 본 실험에 사용한 야생집쥐도 외형과 색깔, 치아의 형태 등으로 미루어 보아 전자들과 동일한 국내 점유종인 *Rattus norvegicus* 로 생각되었다.

국내분리주인 ADV/NYJ-1-87 접종개체들은 대부분 접종 3~4일째에 심한 임상증상을 보이다가 폐사하였고 4개체에서는 동일한 임상증상을 보이다가 서서히 회복하였는데 이는 집쥐에 대한 잠복감염의 가능성을 의심케 하는 것으로서 지금까지 잠복감염은 돼지에서만 일어난다는 것으로 보고되어 있으나 야생집쥐가 이 병의 전파에 중요한 역할을 할 수 있는 만큼 추후 집쥐에 대한 잠복감염 연구가 있어야 할 것으로 생각된다^{19,20}.

결 론

오제스키병 바이러스 국내분리주인 NYJ-1-87주를 비강으로 인공감염시킨 국내서식 야생집쥐(*Rattus norvegicus*)에서 이 병의 병리학적 성상과 발생기전을 규명하기 위

하여 임상증상, 병리조직검사, ABC 염색 및 ISH 방법으로 관찰하였다.

접종된 야생집쥐 15마리 대부분은 접종 48~55시간째부터 피모가 거칠어지고 식욕부진 및 운동량이 감소하여 침울한 증상을 보이다가 3마리는 66~72시간째 폐사하였고, 8마리는 안면부에 소양증을 보이다가 96시간째 폐사하였고, 4마리는 10일 이후에 정상으로 회복되는 것으로 볼때 야생집쥐가 실험용 랫드보다 ADV에 저항성이 높다는 것을 알 수 있었다.

현미경적 소견으로는 뇌에 경미한 신경세포 피사 및 신경세포 식현상, 위관형 원형세포침윤, 교세포 증가증등을 관찰할 수 있었다. 그리고 대뇌피질부와 연수부위에서 호산성 핵내 봉입체를 빈번히 관찰할 수 있었다.

ABC 염색과 ISH를 실시한 결과 ADV의 비강점종시 바이러스 항원 및 핵산은 삼차신경절, 뇌, 편도, 비강, 폐, 간에서 주로 검출되었으며 비강으로 침입한 바이러스는 비점막과 편도상피세포에서 일차증식하여 인접 림프절로 이동하며 다른 한편으로는 비강에 분포하는 후각신경과 삼차신경을 통하여 직접 중추신경계로 이동하는 것으로 생각되었다.

Legends for figures

- Fig 1. Positive reaction(dark brown pigmentation) for the antigens in telencephalon of *Rattus norvegicus* intranasally infected with Aujeszky's disease virus(NYJ-1-87). ABPC. × 100.
- Fig 2. Positive reaction(arrows) for the antigens in myelencephalon of *Rattus norvegicus* intranasally infected with Aujeszky's disease virus(NYJ-1-87). ABPC(Counterstained with hematoxylin). × 100.
- Fig 3. Positive reaction(arrows) in the nuclei and cytoplasm of the trigeminal ganglion of *Rattus norvegicus* intranasally infected with Aujeszky's disease virus(NYJ-1-87). ABPC. × 100.
- Fig 4. ADV nucleic acid detected in the infected nerve cells of trigeminal ganglion of *Rattus norvegicus* intranasally infected with Aujeszky's disease virus(NYJ-1-87). ISH. × 200.

참 고 문 헌

1. Bakerville A. The influence of dose of virus on the clinical signs in experimental Aujeszky's disease in pigs. *Br Vet J*, 128:394-401, 1972.
2. Bernard NF, et al. Virology. Raven Press, New York, 1787-1887, 1990.
3. Card JP, et al. Neurotropic properties of pseudorabies virus : uptake and transneuronal passage in the rat central nervous system. *J Neurosci*, 10(6):1976-1994, 1990.
4. Galloway IA. Aujeszky's disease. *Vet Rec*, 50:745, 1938.
5. Johns TC, Hunt RD. Veterinary Pathology, Lea & Febiger, Philadelphia, 28:322-323, 1997.
6. Shope RE. Pseudorabies as a contagious disease of swine. *Science*, 80:102-103, 1934.
7. Cassells RW, Lsamont HG. Aujeszky's disease in dogs. *Vet Rec*, 54:21, 1942.
8. Lamont HG, Gorden WAM. Aujeszky's disease a sporadic case in a Fox terrier bitch. *Vet Rec*, 62:596, 1950.
9. Fraser G, Ramachandran SP. Studies on the virus of Aujeszky's disease I. Pathogenicity for rats and mice. *J Comp Path*, 79:435-443, 1969.
10. Kim SB, Sur JH, Moon UG. Avidin-biotin complex for immunohistochemical diagnosis of Aujeszky's disease and hog cholera. *Korean J Vet Res*, 30(4):435-440, 1990.
11. Weiss LM, Movahed LA, Berry GJ, et al. *In situ* hybridization studies for viral nucleic acids in heart and lung allograft biopsies. *Am J Pathol*, 93:673, 1990.
12. 서정향, 문운경, 김순복. *In situ* hybridization 방법을 이용한 오제스키병 바이러스 핵산 검출. 대한수의학회지, 34(2):327-333, 1994.
13. 황의경, 진영화, 권영방. 돼지 오제스키병의 국내발생에 관한 병리학적관찰. 농시논문집, 31(2):24-29, 1989.
14. Masic M, Erceegan M, Petrovic M. Die Bedeutung der Tonsillen für die pathogenesis und Diagnose der Aujeszky'schen Krankheit bei Schweinen. *Zentralbl Veterinaermed*, 12:389-405, 1965.
15. Shope RE. An experimental study of mad itch with especial reference to its relationship to pseudorabies. *J Exp Med*, 54:233-238, 1931.
16. Ugolini G, Kuypers HGJM, Strick PL. Transneuronal transfer of herpes-virus from peripheral nerves to cortex and brainstem. *Science*, 243:89-91, 1989.
17. 박정우, 전무형, 안수환. 국내분리 Aujeszky's disease virus의 실험적 감염자돈에 대한 바이러스학적 연구. 대한수의학회지, 30(2):177-186, 1990.
18. 김희선, 강문일. 국내에서 채취한 야생집쥐(*Rattus norvegicus*)의 외형 및 두개골의 형태학적 특징. 대한공중보건학회지, 18(3):241-250, 1994.
19. Sabo A, et al. Studies on the pathogenesis of Aujeszky's disease. *Acta Virol*, 12:214-221, 1968.
20. William LM, Eugene CP. Sequential changes in humoral immune response of pigs to pseudorabies virus after vaccination, exposure to virulent virus, and reactivation of latent virus. *J Vet Diagn Invest*, 2:35-43, 1990.