

6. *In Situ Hybridization*법을 이용한 개 파보바이러스 항원동정

환국, 김근규, 임기재, 김순복*

부산보건환경연구원 가축위생시험소
경상대학교 수의과대학*

바이러스의 분리동정없이 개 파보바이러스(Canine parvovirus : CPV)감염증 원인체의 핵산을 검출함으로써 신속하게 확진할 수 있는 진단법을 개발하고 실용화하기 위하여 인공감염시킨 CRFK 세포와 자연감염된 German Sheperd 종 개의 각종 장기의 조직절편에 *in situ hybridization*(ISH)기법을 적용시켰다. Probe DNA는 VP-1 전체와 VP-2 절반부위가 포함되는 1.2kbdml CPV-DNA를 본 실험실에서 PCR기법을 이용하여 합성하였고, 크기와 위치가 각각 다른 두가지 clone을 수의과학연구소에서 분양받아 정제하여 사용하였다. ISH기법을 위해서 probe DNA를 digoxigenin(DIG)-dUTP로 표지하고, anti-DIG alkaline phosphatase conjugate로 반응시켜 검출하였다.

1. ISH 기법을 적용한 결과, 바이러스 핵산의 존재를 나타내는 특이 양성반응은 감염부위에서 자주빛을 띤 푸른색의 색소로 침착되었다. CPV를 인공감염시킨 CRFK세포에서는 시간의 경과에 따라 핵내와 세포질내에서 양성반응이 관찰되었고, 자연감염된 조직절편내에서는 주로 장, 임파절, 흉선, 비장, 심장, 간, 신장등에서 관찰되었다.

2. CPV를 접종한 CRFK cell에서는 CPV를 10³배 희석하여 접종한 well까지 양성반응이 관찰되었고, CPV를 접종하지 않은 대조에서는 양성반응세포가 관찰되지 않았다.

3. PCR기법으로 합성하여 제작한 probe와, 인공감염된 세포와 자연감염된 조직절편내에서 바이러스 핵산을 검출하는 실험을 위하여, CRFK 세포와 자연감염된 조직절편내에서 양성반응이 관찰되는 부위를 대상으로 PCR기법을 이용하여 바이러스 핵산을 증폭시켰다. 증폭된 DNA를 agarose gel electrophoresis를 이용하여 분리하고, ethidium bromide로 염색하여 gel electrophoresis를 실시하여 바이러스 핵산의 존재를 확인하였다. PCR기법을 이용하여 바이러스 핵산을 증폭시킨 후, agarose gel electrophoresis를 실시하여 바이러스 핵산의 존재를 확인하였다. 증폭된 DNA를 agarose gel electrophoresis를 이용하여 분리하고, ethidium bromide로 염색하여 gel electrophoresis를 실시하여 바이러스 핵산의 존재를 확인하였다.

clone에서 분리하여 제작한 probe 모두 조직내에서 CPV 핵산을 검출하는데 있어서 우수한 양성반응을 나타내었다.

이상의 결과에서 ISH기법은 개 파보바이러스 감염증의 진단에 있어서 고도의 특이성과 감수성을 보였으며, 원인바이러스의 분리동정없이 조직내 바이러스 핵산을 직접 검출함으로써 12시간 이내에 조기 확진할 수 있는 진단법으로 판명되었고 앞으로 야외에서 널리 활용될 수 있을 것으로 생각되었다.

7. 양식넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 복수증에 관한 연구

한재철, 김영진, 서형석, 김영길*, 이근광*, 안병복
전라북도가축위생시험소정읍지소
군산대학교 해양산업대학 수족병리과*

복수증에 걸린 양식넙치(*Paralichthys olivaceus*)에서 분리한 *Edwardsiella tarda*의 일부 특성과 병원성을 조사하였다. 넙치에 복수증을 유발시킨 원인균의 생화학적·생물물리학적 특성을 조사한 결과 *E. tarda*로 동정되었고, 이들 분리균을 *E. tarda* KBF-11과 *E. tarda* KBF-1로 명명하였다. 이들 분리균주의 발육 최적 pH는 8.0이었고, 최적 NaCl 농도는 *E. tarda* KBF-1이 0%, *E. tarda* KBF-1은 1% 이었다.

병원성 시험에서 *E. tarda* KBF-1을 1.0×10⁷cfu/fish 감염시킨 그룹에서 감염 60시간 후에 0~10마리가 폐사되었으며, 1.0×10⁷cfu/fish를 감염시킨 그룹에서는 감염 60시간 후에 0~9마리가 폐사되었다. *E. tarda* KBF-1을 1.0×10⁷cfu/fish를 감염시킨 그룹에서는 감염 36시간 후에 0~10마리가 폐사 되었으나, 10×10⁶cfu/fish를 감염시킨 그룹에서는 감염 60시간 후에 0~7

해우염 0.1-4.0% (평균 2.3%)
이들 감염: 5마리
이들 폐사: 4마리 2마리 5마리 5마리 6마리
이들 폐사: 18마리 2마리 2마리
이들 폐사: 18마리 2마리 2마리 4마리 4마리 4마리

마리가 폐사되었다.

항생제 감수성 시험에서는 *E. tarda* KBF-1은 AM, CF, N에 저항성을 나타냈고, E, K, S에는 중등도였으며, C, G, SxT, FF에는 감수성을 나타냈다. 또한, *E. tarda* KMF-1은 CF, E, V에 저항성을 나타냈고, AM, C, N, Sxt에는 중등도였으며, GM, FF에 감수성을 나타내었다.

8. 오리 *Pasteurella anatipestifer* 균종 개발백신의 효능시험에 관한 연구

강춘원, 이인화, 최영근, 문만,
최동식, 노용기, 이성희
전라남도축산기술연구소

환절기에 주로 발생하는 오리 호흡기 질병인 *Pasteurella anatipestifer* 감염증은 *Pasteurella anatipestifer*가 원인균이며 집단발생과 높은 폐사율이 특징이다. 국내 최초로 본질병 백신이 개발되어 백신접종에 따른 항체역가 수준, 공격균에 대한 방어율과 장기의 상태 및 체중의 변화를 측정 조사한 결과 다음과 같이 성적을 얻었다.

1. 시험관 응집방응법으로 항체역가를 측정하여 본 결과 백신접종전 항체수준은 3.0이었으나, 1차(1회) 백신접종후 1주에서 5주까지 4.0이었고 6주에서는 2.0이었다. 2차(2회) 백신접종군에서 접종후 1주 5.0, 2주 6.0, 4주에서 5주까지 4.0이었다.

2. 백신 접종후 *Pasteurella anatipestifer*(2.4×10^9 CFU/Bird)균 공격에 대한 방어효과는 1차(1회) 백신접종후 1주후 36.2%, 2주후 78.9%, 3주후 69.2%, 4주후 92.3%, 5주후 84.6%이나, 2차(2회) 백신접종군에서 백신접종후 1~3주까지 100.0% 4주에는 92.3%의 방어율을 보이고 있다.

3. 백신에 의해 면역된 오리 13수씩 5주간 구분

하여 1주일 간격으로 폐사 및 생존 시험축을 부검하여 관찰한 결과 섬유소성 심장병변이 정도의 차이는 있으나 1차(1회)백신접종군에서 백신접종 1주후 53.8%, 2주후 23.1%, 3주후 30.8%, 4~5주후 18.2% 나타났으며, 2차(2회) 백신접종군에서 백신접종 완료 1주후 23.1%, 2~3주후 0%, 4주후에는 7.7%의 비율로 병변이 나타났다.

4. 백신접종에 따른 체중변화를 조사하여 본 결과 대조군에 비해 1차(1회) 백신접종했을때 접종후 1주일인 17일령에서 7.5%, 24일령에서 2.0%, 38일령에서 8.0%의 감소를 보였고, 2차(2회) 백신접종 실시후 1주일인 24일령에서 9.0%, 38일령에서 14.0%의 체중 감소를 보였다.

9. 신생자돈에 발생한 패혈증성 대장균증(비병원성 대장균에 의한 신생자돈 폐사에)

오박리

김종성, 강완철
제주도축산진흥원 가축방역과

제주도 축산진흥원 가축방역과에 병성감정 의뢰한 폐사자돈에(생후 1주 이내 신생자돈)대하여 병성감정결과 패혈증성 대장균 증이었으며 그 특성을 조사한바 다음과 같다.

1. 폐사자돈은 생후 1주 이내 자돈으로서 임상 증상은 식욕[↓]폐[↓]질, 경련성발작(신경증상, 떨림소리 지르기)이었으며 임상증상후 24시간내 폐사하였다.

2. 폐사자돈의 생모돈은 7두의 자돈을 분만하였고 분만 1주후 3두가 대장균증으로 폐사하고 나머지 4두는 분만 2주후 정상상태이었다.

3. 폐사자돈의 부검소견은 섬유소성 흉막염(유백색 섬유소 흉막내부착) 섬유소성 복막염(유백색 섬유소 복막내 부착)이었으며 실질장기와 소화기관은 특이점이 없었다.

4. 실질장기(심장, 간, 폐)를 배양재료로 하여 배양 시험결과는 대장균 특성을 나타냈었다.

5. 항생물질 감수성 시험결과는 젠타마이신, 바이트릴, 아미카신, 세파졸린, 카나마이신에 감수성 있었다.

6. 마우스에 대한 병원성 시험결과는 병원성 음성이었다.

7. 생후 1주이내 자돈에 있어서 비병원성, 대장균에 의해서도 폐열증성 대장균등으로 자돈이 폐사될 수 있는 예가 관찰되었다.

대장균 배양 결과 요약
 1-4일 배양
 5일 - 7일 배양 (항생물질 배양 시험)
 배양 결과 요약
 배양 결과 요약
 배양 결과 요약
 배양 결과 요약

특수 배양 결과 요약 - 배양 - 배양 결과 요약 - 결과. (배양 결과 요약)

1998년 배양 결과 요약 - 배양 결과 요약
 배양 결과 요약
 배양 결과 요약
 배양 결과 요약

배양 결과 요약 - 배양 결과 요약 - 배양 결과 요약 - 배양 결과 요약

배양 결과 요약 - 배양 결과 요약 - 배양 결과 요약 - 배양 결과 요약