

# 罹患仔豚으로부터 오제스키병 바이러스 分離와 生物學的 性狀

全茂炯·趙聲煥·安壽煥\*·朴性國  
尹錫敏\*\*·河龍公\*\*

## 서 론

오제스키병 (Aujeszky's disease) 바이러스 (ADV) 일명 가성광견병 (Pseudorabies) 바이러스는 돼지, 소, 양, 개, 고양이 등의 가축과 랫트, 마우스, 여우, 곰, 밍크 및 각종 조류에 감염하여 심한 임상증세와 높은 폐사율을 일으킨다.<sup>2, 6, 20)</sup>

본 병은 1902년에 헝가리인 Aujeszky가 소, 개, 고양이에서 발생례를 처음 보고하였고, 1910년에 원인바이러스가 확인되었으며,<sup>2, 6)</sup> 그 후 Traub<sup>16)</sup> 가 시험관내에서 바이러스를 증식시켰다. 본 병은 유럽과 미주지역을 위시하여 인도, 동남아시아제국, 대만, 뉴질랜드, 일본 등지에서 발생되었으며,<sup>4, 5, 20)</sup> 근래 세계적으로 양돈산업이 발전하여 기업화되고 국제간에 교역이 증대함에 따라 전파가 빨라 거의 대부분의 지역에서 발생되고 있으며 특히 돼지에서 중요한 전염병으로 간주되고 있다.<sup>2, 5, 20)</sup>

우리나라는 외국에서 도입하는 종돈의 철저한 검역 검색으로 그동안 본 병의 발생은 없었으나 1987년 6월 경남 양산지역에서 처음 발생되었으며 그 후 경남 및 경기지역에서 계속 발생하여 지난해 6월에서 12월사이에 5개 농장에서 471두가 양성으로 판정되어<sup>17)</sup> 우리나라에 본병이 발생되고 있음이 확인되었고 역학 및 방역적 차원에서 본병의 전파에 대한 연구가 요망되고 있다.

본 병이 처음 발생된 경남지역과 경기도지역에서 발생된 일부 농장의 환돈으로부터 원인바이러스의

분리 및 그 성상에 대한 연구결과는 가축위생연구소 연구진에 의해 보고된 바 있다.<sup>19)</sup> 저자 등은 경기도 남양주의 한 양돈장에서 발생된 오제스키병 증례에서 원인바이러스를 분리하였고 분리된 바이러스의 생물학적 성상에 대한 연구를 수행하여 몇가지 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

**재료채취 :** 경기도 남양주군에 위치한 K 씨 양돈장으로부터 심한 임상증세를 나타내며 빈사상태가 된 10~14일령된 포유자돈 3두가 병성감정 목적으로 연구실에 의뢰되었으며 품고 및 부검소견으로 오제스키병으로 잠정진단하였다. 원인바이러스를 분리하기 위해 3두에서 대뇌, 소뇌, 연수와 폐조직을 무균적으로 절취하여 Eagle's minimum essential medium (Gibco; penicilline 200 unit/ml, streptomycin 200 µg/ml, fungizone 20 µg/ml 첨가=EMEM) 을 가한 병에 넣고 -20°C에서 보관하였다. 혈청중 항체를 검사하기 위해 종모돈 10두와 이환자돈 3두의 혈청을 채취하여 -20°C에 보관하였다.

**바이러스 분리 :** Hsiung<sup>8)</sup> 과 Mocsári 등<sup>13)</sup> 의 방법을 응용하였다. 요약하면 가검재료를 EMEM에 10배 유제하고 상층액을 초대 돼지신장세포, PK-15 및 BK세포주에 0.2ml씩 접종하고 37°C에서 1.5시간 흡착시킨 후 인산완충식염수 (pH 7.1)로 2회 세척하고 EMEM에 5% 우혈청을 가한 유지배지를 가하고 37°C에서 배양하면서 세포변형효과 (CPE) 를 관찰하였다. 7일간 관찰해서 액상 CPE (CPE in-fluid culture)가 출현하지 않은 시험관은 3대 blind passage하였고 CPE가 확인된 것은 다음 시험을 위

충남대학교 수의학과

\* 가축위생연구소

\*\* 중앙가축전염병연구소

해  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다. 세포병리학적 검사를 위해 Leighton tube에 cover slip을 넣고 세포를 배양한 후 위와 같은 방법으로 가검물을 접종하고 액상 CPE가 발현했을때 hematoxylin eosin으로 염색하여 세포내부구조를 관찰하였다.<sup>9)</sup>

**역가측정 :** 바이러스의 역가측정은 10진희석 배수당 3개의 시험관을 이용하였고 접종 후 5일째 TCID<sub>50</sub>를 Reed 및 Muench 방법에 의하여 결정하였다.

**물리화학적 성상 :** Chloroform 및 ether에 대한 감수성시험, pH 및 열처리에 대한 안정성은 Hsiung<sup>8)</sup> 및 Johnson<sup>10)</sup>의 방법을 응용하여 microplate에서 실시하였다. 핵산형 결정은 Bhatt 등<sup>3)</sup> 및 Kuchler<sup>12)</sup>의 방법을 응용하여  $10^{-4}\text{M}$  5-bromo-2'-deoxyuridine (BUDR)에 대한 바이러스 증식성상을 PK-15 세포주를 이용하여 시험하였으며, 대조 RNA virus는 parainfluenza-3, DNA virus로는 infectious bovine rhinotracheitis virus를 사용하였다.

**혈구응집시험 :** Kuchler<sup>12)</sup>의 방법을 이용하여 사람 0, 기니픽, 마우스, 랫트, 개, 닭 및 산양의 적혈구에 대한 분리바이러스의 혈구응집능을 실온에서 시험하였다.

**혈청중화시험 :** 일본 기따사또 연구소에서 생산한 ADV ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) 진단키트와 가축위생연구소에서 생산한 ADV RID EA (radial immunodiffusion enzyme assay) 진단키트를 이용하여<sup>13)</sup> 항체 증명시험을 사용법에 준하여 실시하였다.

**형광항체시험 :** 분리바이러스를 10진 희석하여 PK-15 세포주에 접종한 후 ADV monoclonal antibody를 이용하여 간접형광항체법으로 ADV 특이항원 증명시험을 행하였다.<sup>14)</sup>

**바이러스 증식곡선 :** 초대 돼지신장세포 PK-15 세포주를 이용하여 Pensaert 등<sup>14)</sup>의 방법으로 수행하였다.  $10^{2.5} \sim 10^{5.5}$  TCID<sub>50</sub>/0.1ml 역가의 바이러스 0.2ml를 접종하고  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 1.5시간 흡착시킨 후 배양하면서 시험관을 경시적으로 취하여 냉동시킨 후 2회 냉동융해하여 상층액의 바이러스 역가를 측정하였다.

**동물접종시험 :**  $10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub>/0.1ml 역가의 바이러스를 11일령된 부화계란의 장노막에 0.1ml, 마우스 (18~20g)의 복강에 0.1ml 그리고 토끼 (2.0~2.5 kg)의 피하에 0.25ml, 0.5ml, 1ml 및 2ml를 각각 접종하고 관찰하였다. 병리조직표본의 작성은 가검

조직을 10% 완충포르말린으로 고정하고 표준 hematoxylin eosin 염색법으로 수행하였다.

## 결 과

**바이러스 분리 및 세포변성효과 :** 환돈에서 얻어진 가검물을 초대 돼지신장세포 및 PK-15 세포에 접종한 바 Table 1에서 나타난 바와 같이 3두중 2두에서 바이러스를 분리하였다. 분리된 바이러스는 세포에 접종후 18~20시간 부터 focal degeneration 및 원형 퇴행성세포들을 동반한 액상 CPE를 일으켰다. 접종후 24시간에는 세포면의 50~80%에 CPE가 일어났으며 합포체세포가 관찰되었다 (Fig. 2A). 접종후 25시간에 취하여 염색한 세포에서는 다양한 퇴행성세포, 25~50개의 핵을 함유한 합포체 세포 및 감염세포의 50~60%에서 염기성 Cowdry-type A 핵내포입체가 관찰되었으며 세포질에서는 특이한 변화가 없었다 (Fig 2B 및 Fig 3). 분리된 바이러스 2주는 NYJ-I-87 및 NYJ-II-87로 명시하였고 (Table 1) 2내지 4대 계대수준에서 성상검사를 수행하였다.

**물리화학적 성상 :** 분리주 NYJ-I-87은 ether와 chloroform에 대해 매우 높은 감수성을 나타내어 lipid solvents 처리후 역가가 완전 소실되었다.  $40^{\circ}\text{C}$ ,  $25^{\circ}\text{C}$  및  $56^{\circ}\text{C}$ 에 대한 처리결과  $4^{\circ}\text{C}$ 와  $25^{\circ}\text{C}$ 에서는 약간의 역가하락이 있었고  $56^{\circ}\text{C}$ 에 30분간 처리에서는 완전소실되었다. pH에 대한 안정성은 강알카리 (pH 9.0)보다 강산 (pH 3.0)에서 더욱 감수성이 높았다 (Table 2). 핵산형시험결과 (Table 3) 분리주는 5-BUDR을 처리한 세포에서 현저한 증식저지를 나

**Table 1.** Isolation of Aujeszky's Disease Virus from Clinically Suspected Suckling Piglets

Piglets	Tissues tested	Cells		Designation
		Primary PK	PK-15	
1	Brain*	-	-	
	Lung	NT	NT	
2	Brain	+	+	NYJ-I-87
	Lung	+	+	NYJ-I-87
3	Brain	-	+	NYJ-II-87
	Lung	NT	NT	

- : no virus isolated. + : virus isolated.  
NT = not tested

\* : Mixtures of cerebrum, cerebellum and medulla oblongata

타내어 분리주가 DNA genome을 가진 바이러스임이 밝혀졌다. 사람 0, 기니피, 마우스, 랫트, 닭, 개 및 산양의 적혈구에 대한 혈구응집능은 인정되지 않았다.

**혈청학적 시험** : 모든 10두 및 이환자돈 3두에서 얻은 혈청에 대해 중화항체시험을 실시한 바 중화항체가는 8~256으로 모두 양성되었고 ELISA 및 RIDEA 시험에서도 모두 양성으로 판정되었다 (Table 4). 또한 기지의 돼지 오제스키병 양성혈청 (중화항체가; 256)으로 NYJ-I-87 및 NYJ-II-87 ( $10^{6.25}$  TCID<sub>50</sub>/0.1ml)의 바이러스 중화시험을 한 바 5배 희석된 혈청과 중화되었다. 또한 분리주를 PK-15 세포에 접종한 후 24시간에 ADV monoclonal antibody로 반응시킨후 간접형광항체법으로 ADV 특이 항원을 검출한 바 Fig.4와 같이 focal degeneration이 일어난 주위세포들의 핵내 및 세포질내에서 특이한 형광이 관찰되었다.

**바이러스 증식곡선** : PK-15 세포에 대한 분리주의 증식성상을 조사한 바  $10^{3.5}$ ,  $10^{4.5}$  및  $10^{5.5}$  TCID<sub>50</sub>/0.1ml 역가에서 공히 접종후 18시간에 증식이 인정되어 24시간에는 급격히 상승하였고 48시간에는  $10^{7.2}$  TCID<sub>50</sub>로 최고에 달했으며, 72시간까지는 평형을 유지하다 96시간에는 다소 감소하였다 (Fig.7). 접종량에 따른 증식정도의 차이는 접종후 18~24시간에 다소 인정되었고 48~96시간에는 유의한 차이가 없었다.

**동물접종시험** : NYJ-I-87주를 부화계란의 장노막상에 접종했을때 접종후 3일째에 장노막상에

**Table 3.** Effect of 5-bromodeoxyuridine (5-BUDR) on Multiplication of Isolated Aujeszky's Disease Virus

Virus	Inoculum	Virus yield	
		without 5-BUDR	with $10^{-4}$ M 5-BUDR
Isolate (NYJ-I-87)	3.75	6.5	<1.0
PI-3	3.1	6.25	6.67
IBRV	3.5	6.0	<1.33

PI-3=Parainfluenza virus-3

IBRV=Infectious bovine rhinotracheitis virus

Numbers represent titer of log TCID<sub>50</sub>/0.1ml

**Table 4.** Summary of Serological Studies on the Sera Obtained from Pig Farm on Epizootic of Aujeszky's Disease

Source of serum	No. of serum	SN test (titers)	ELISA	RIDEA
Breeding sow	10	10 / 10* (8-256)	10 / 10	10 / 10
Affected Piglet	3	3 / 3 (16-128)	3 / 3	3 / 3

\*No. positive / No. tested

ELISA=enzyme linked immunosorbent assay

RIDEA=radial immunodiffusion enzyme assay

출혈을 동반한 5~6개의 0.3~0.6cm 크기의 폭크를 형성하였다 (Fig. 5). 병변부위의 병리조직

**Table 2.** Effects of Lipid Solvents, Heat and pH on Infectivity Titer of Isolated Aujeszky's Disease Virus Compared to Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus

Type of exposures	Infectivity titer (log TCID <sub>50</sub> /0.1ml)			
	Isolate		IBRV	
	pre	post	pre	post
5% CHCl <sub>3</sub> , 10 min. 22°C	5.25*	0	5.2	<1.0
30% ether, 18 hrs. 4°C	5.25	0	5.0	0
56°C 30 min.	5.5	0	5.25	0
25°C 48 hrs.	5.5	4.75	5.25	4.2
4°C 48 hrs.	5.5	5.2	5.25	5.0
pH 3.0, 60 min. 22°C	5.75	1.5	5.2	2.75
pH 9.0, 60 min. 22°C	5.75	4.5	5.2	4.75

\*Expressed as mean TCID<sub>50</sub>/0.1ml of duplicate tests

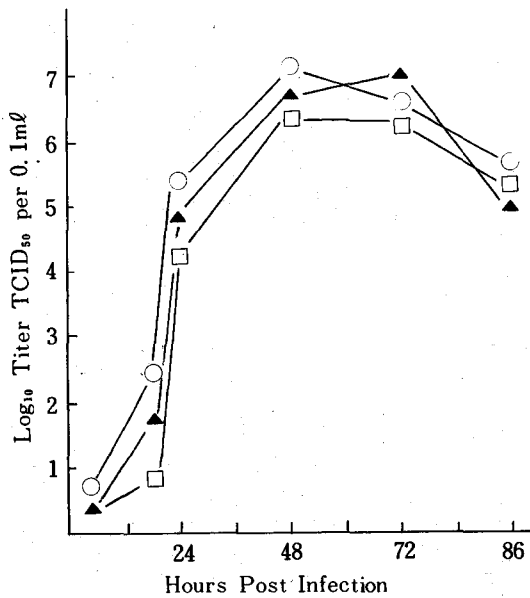


Fig. 7. Growth curve of isolated Aujeszky's disease virus in porcine kidney cell line (PK-15).  
Virus inoculum : O; 10<sup>5.5</sup> TCID<sub>50</sub>/0.1ml  
▲; 10<sup>4.5</sup> TCID<sub>50</sub>/0.1ml, □; 10<sup>5.5</sup> TCID<sub>50</sub>/0.1ml

Table 5. Pathogenicity of Isolated Aujeszky's Disease Virus in Experimental Animals

Animals	Treatment	No. of animals	Days post inoculation				
			0	1	2	3	4
Chick-embryo	0.2ml*CAM	5	-	-	-	5/5**	-
	control	3	-	-	-	-	0/3
Mice	0.1ml i. p.	10	0/10	10/10 <sup>+</sup>	-	-	-
	control	5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Rabbits	2.0ml s. c.	2	0/2	0/2	2/2	-	-
	1.0ml s. c.	2	0/2	0/2	1/2	1/2	-
	0.5ml s. c.	2	0/2	0/2	1/2	1/2	-
	control	2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2

\* Virus titer; 10<sup>4.5</sup> TCID<sub>50</sub>/0.1ml

\*\* No. of showing hemorrhages and pocks/No. of inoculated. + No. dead/No. inoculated

학적 검사에서는 미만성 출혈과 장노막 상피층 세포내에 핵내 봉입체가 인정되었다(Fig. 6A, 6B). 또한 마우스의 복강내에 접종했을 때 접종후 24~48시간에 10수 모두 폐사하였고, 토끼에 피하접종시 2ml 접종군은 특별한 임상소견없이 48시간만에 모

두 폐사하였다. 그러나 0.25ml, 0.5ml 및 1ml 를 접종한 군은 접종후 48~72시간에 접종부위에 심한 양각증세와 교양증에 의한 피부의 심한 손상을 나타내면서 모두 폐사하였다(Table. 5).

## 고찰

오제스키병(Aujeszky's disease)은 여러 가축과 야생동물에 감염하여 치사적인 병증을 보이는 전염병으로써 특히 돼지에서는 자돈에 대한 높은 폐사율과 모돈에서 유사산 등의 번식장애를 유발하고 보독돈이 생김으로써 양돈산업에 많은 피해를 주는 질병이다.<sup>2, 4, 5, 6, 20)</sup>

우리나라는 근래까지 본 병 무발생국가였으나 1987년 6월에 경남 양산지역에서 첫 발생이 보고됨으로써 양돈업 뿐만 아니라 축산전반에 걸쳐 본 병에 대한 인식이 높아지고 방역차원에서 중요성이 강조되고 있다.<sup>18, 20)</sup>

본 연구에서 대상이 된 농장은 경기도 남양주에 위치한 K씨 소유로 사육을 시작한지 4년이 되었고 위치는 하천과 도로에 연결해 있었다. 병발생 당시의 사육현황은 Table 6에서 요약한 바와 같이 총 220두 규모로 1986년 5월에 시중에서 종돈 10수를 구입한 적이 있었다. 1987년 11월부터 임신돈에서 유사산이 발생하기 시작하였고 오제스키병 증세를 동반한 자돈의 발병과 폐사율이 80~85%에 달했으며 12월에 관계당국의 방역조치에 의해 전 두수를 살처분하여 폐기하였고 농장은 폐쇄되었다.(Table 6).

이환자돈에서 나타난 주요증세는 고열, 침흘림, 신경증세, 운동실조, 급사였고, 모돈에서는 고열과 식욕부진을 동반한 유사산증세가 주로 관찰되었다. 폐사자돈의 부검에서는 임파절 특히 서혜부임파절의 종장 및 미만성 출혈, 폐 및 신장의 점상 및 반상 출혈, 비장의 종대 및 점상출혈이 관찰되었다.

이 농장으로부터 병성감정목적으로 의뢰된 이환자돈 3두의 뇌와 폐조직에서 바이러스 분리를 시도하여 2두에서 오제스키병 바이러스(ADV)를 분리하였다. 재료채취과정에서 ADV의 분리빈도가 일반적으로 높은<sup>9)</sup> 편도선, 임파조직 및 비장을 포함하여 시험하였다면 나머지 1두에서도 원인바이러스를 분리했을 가능성이 높은 것으로 생각된다.

분리된 NYJ-I-87 및 NYJ-II-87의 세포병

**Table 6.** Epizootiological Background of the Piggery that Aujeszky's Disease Occurred during October to December 1987

Subjects	Details
Total head	200 to 230
No. of breeding sows	20 (Yorkshire; 5, Landrace; 15)
Vaccination	hog cholera, swine erysipelas, Japanese B encephalitis
Stillbirth and abortion	occurred on the end of Oct. 1987 to Dec. 1987
Rate of stillbirth and abortion by sow	5 / 20 (25%)
Rate of outbreaks by batch	5 / 7 (71.4%)
Suckling pig mortality*	43 / 52 (82.7%)
Affected ages	clinical signs manifested on 7 to 21 days old and usually died on 9 to 24 days old
Control measurements	slaughtered all pigs and closed the farm by authorities on the end of Dec. 1987

\* Major clinical signs; fever, salivation, anorexia, neuropathy, and sudden death

리학적 연구에서는 syncytium과 Cowdry type A intranuclear inclusion body 형성 등 전형적인 Herpesviridae의 cytopathic effects가 관찰되었다 (Fig. 2, 3). 분리주를 배양세포에서 1대 계대하여 11일령된 부화계란의 장노막상, 마우스의 복강 및 토끼의 피부에 접종하였을때, 장노막상에 폭크형성 및 핵내봉입체형성, 마우스의 폐사 그리고 토끼는 접종 후 2~3일에 점종국소에 심한 양각증세를 나타내며 폐사하여 분리된 바이러스가 ADV임이 강하게 입증되었다 (Table 5).

물리화학적 성상시험에서는 분리주가 lipid solvents인 ether와 chloroform에 의해 완전 불활화되어 높은 감수성을 보임으로써 envelope를 가진 바이러스임이 확인되었으며 (Table 2), DNA 합성저지제인 5-bromodeoxyuridine 존재하에서 분리주의 증식이 현저히 저지되어 분리주가 DNA genome을 가진 바이러스임을 알 수 있었다.

본 시험대상 양돈장에서 사육중인 모든 10두와 이환자돈 3두에서 얻은 혈청에 대해 중화시험, enzyme linked immunosorbent assay 및 radial immunodiffusion enzyme assay 방법을 이용한 혈청학적 검사결과 모두 ADV항체 양성임이 밝혀졌으며 (Table 4) 또한 경남 양산에서 발생한 ADV감염돈에서 획득한 중화항체가 256인 양성혈청으로 분리주의 바이러스 중화항체시험을 실시한 바 5배 희석된 혈청과 중화되었다. 또한 분리주를 PK-15 세포주에 감

염시킨후 ADV 항원에 대한 monoclonal antibody를 이용하여 간접형광항체법으로 관찰하여 특이적인 형광이 인정됨으로써 분리주의 성상이 더욱 확실하게 되었다 (Fig. 4).

이상 언급한 분리주의 생물학적 성상은 Kaplan과 Vatter<sup>11)</sup>, Baskerville 등<sup>2)</sup> 및 Andrews 등<sup>1)</sup>이 언급한 것과 매우 유사하였으며 최근 국내발생으로부터 분리된 ADV 바이러스와도 여러면에서 성상이 비슷하며<sup>19)</sup> 병원성이 비교적 높은 독주라고 생각된다.

국내발생되는 오제스키병의 실체를 더욱 규명하기 위해 본 분리주의 돼지에 대한 병원성상에 관한 연구를 위시하여 분자생물학적 및 면역학적 측면에 대한 보다 깊고 폭넓은 연구가 수행되어야 한다고 사료된다.

## 결 론

경기도 남양주에 위치한 한 양돈장에서 유사산과 포유자돈의 폐사를 동반한 전염병이 발생하여 임상적으로 오제스키병으로 잠정진단하였고, 이환자돈으로부터 원인체 분리를 시도하여 2주의 바이러스를 분리하였다. 분리주에 대한 생물학적 성상검사를 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 분리주 NYJ- I - 87를 초대 돼지신장세포 및 PK- 15세포에 감염시켰을때 접종후 18~24시간에 focal degeneration, 원형 퇴행성변화, 합포체세포형

성 및 Cowdry type A 핵내봉입체를 동반한 세포변성효과가 나타났다.

2. 물리화학적 성장시험에서 분리주는 lipid solvents에 높은 감수성을 보였고, 열 및 산 처리에서 불안정하였으며 5-bromodeoxyuridine 처리시 증식이 저지되어 DNA genome을 가지고 있는 것으로 밝혀졌다. 사람 0, 기니퓰, 랫트, 마우스, 닭, 개 및 산양의 적혈구에 대한 혈구응집능은 없었다.

3. 이환자돈 3두 및 모든 10두로부터 채취한 혈청중 오제스키병 바이러스에 대한 항체를 시험한 바 중화항체시험, 효소면역흡수시험 (ELISA) 및 방사면역확산효소시험 (RIDEA)에서 모두 양성으로 판명되었고 중화항체가는 8~256이었다. 또한 기지의 양성혈청을 이용한 분리주의 중화시험에서는 혈청희석 5 배수에서 중화되었다. 또한 분리주가 감염된 PK-15 세포를 ADV monoclonal antibody로 처

리하여 간접형광항체법으로 시험한 바 ADV 특이 항원이 검출되었다.

4. PK-15 세포에서 분리주의 증식능을 조사하였던 바 접종후 18시간에서 역가가 증가하여 24~48시간에 최고에 달하였으며 ( $10^{7.2}$  TCID<sub>50</sub>/0.1ml), 72시간 이후에는 감소하였다.

5.  $10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub>/0.1ml 역가의 분리주를 계태아 장노막, 마우스 및 토끼에 접종하였던 바 장노막상에는 출혈을 동반한 폭크가 나타났으며 마우스와 토끼는 24~72시간만에 모두 폐사하였으며 토끼에서는 폐사전에 심한 교양증세를 보였다.

6. 발병양돈장의 역학적 배경, 분리된 바이러스의 세포병리학, 물리화학적 성상, 혈청학적 특성, 동물접종시험 등의 결과를 종합한 바 분리주 NYJ-I-87, NYJ-II-87은 병원성이 비교적 강한 오제스키병 바이러스로 규명되었다.

#### Legends for Figures

Fig. 1. Normal culture of PK-15 cells, H & E stain; x100

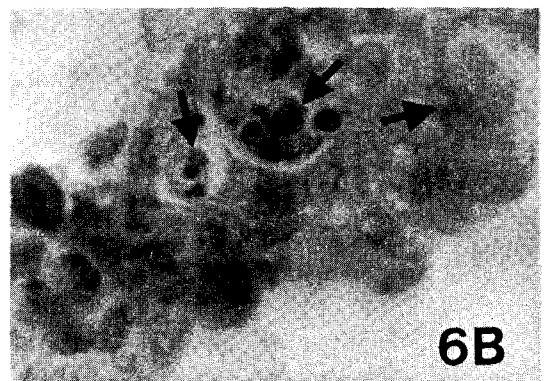
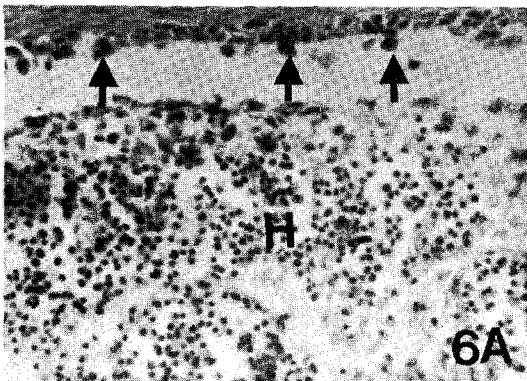
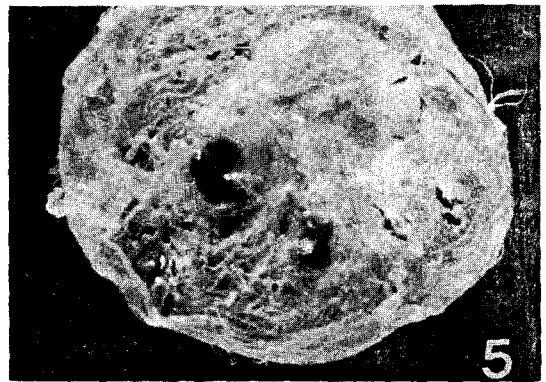
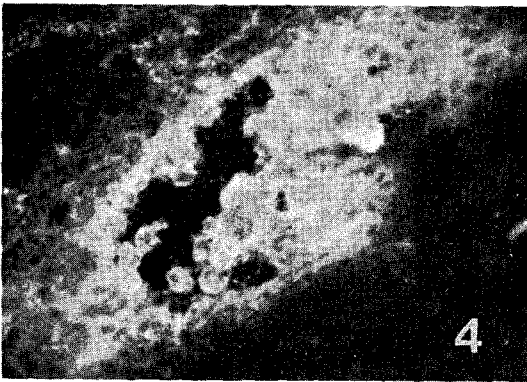
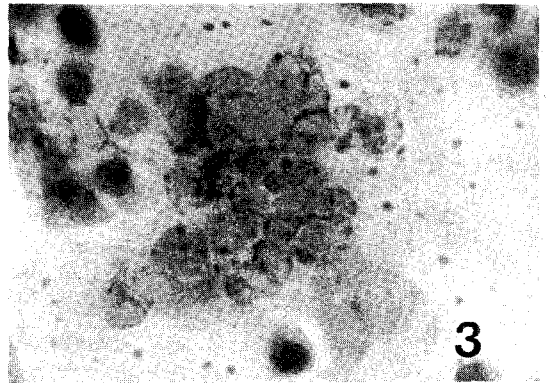
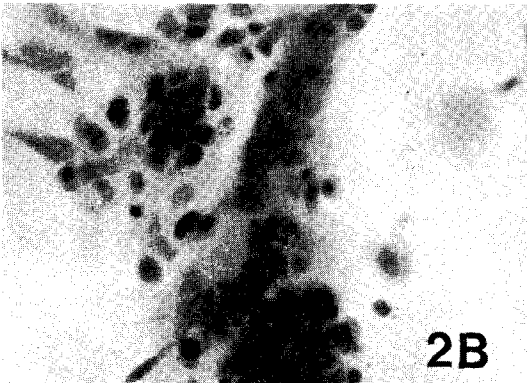
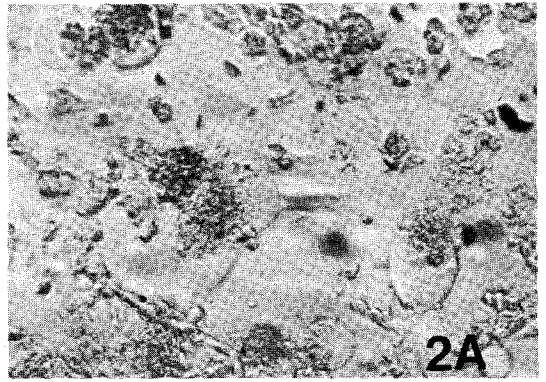
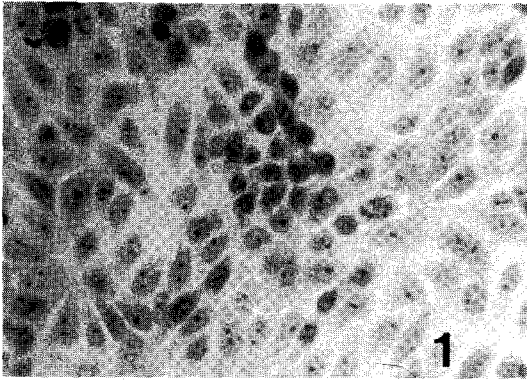
Fig. 2. PK-15 cells infected with the isolate, NYJ-I-87. (A) Cytopathic effects in fluid culture are seen by phase contrast inverted microscope. x100, (B) Degenerated cells, formation of large syncytia including 25-40 nuclei and intranuclear inclusion bodies are noted. H & E stain; x100.

Fig. 3. PK-15 cell culture on 2 days after infection with the isolate, NYJ-I-87. A large syncytium with 42 nuclei and Cowdry type A intranuclear inclusion bodies in each infected nucleus are seen. H & E stain; x200.

Fig. 4. PK-15 cell infected with the isolate, NYJ-I-87, stained by indirect fluorescent antibody method using ADV-monoclonal antibody. Note ADV-specific fluorescence intranuclear and cytoplasm of the cells around the focal degeneration. x100

Fig. 5. Cultivation of the isolate, NYJ-I-87, on chorioallantoic membrane of embryonated hen's eggs after 4 days incubation, 5 to 6 pocks with various size, accompanied hemorrhage, are seen.

Fig. 6. Histopathological changes in the chorioallantoic membrane of embryonated hen's eggs infected with the isolate. (A) Note extensive hemorrhage (H) and intranuclear inclusion bodies (arrows). H & E stain; x50. (B) Note intranuclear inclusion bodies (arrows) in the cells of chorioallantoic epithelial cell layer. H & E stain; x500.



## 参 考 文 献

1. Andrews, C., Pereira, H.G. and Wildy, P. : Viruses of Vertebrates. Bailliere Tindall, London, (1978) pp.312~355
2. Baskerville, A., McFerran, J.B. and Dow, C. : Aujeszky's disease in pigs. Vet. Bulletin, (1973) 43 : 465.
3. Bhatt, P.N., Percy, D.H., Craft, J.L. and Jones, A.M. : Isolation and characterization of a herpes like (Hsiung-Kaplow) virus from guinea pigs. J. Inf. Dis. (1971) 123 : 178.
4. Buxton, A. and Fraser, G. : Animal Microbiology, Vol. 2, Rickettsias and Viruses, Blackwell Scientific Pub. London, (1977) pp.742~745.
5. Gillespie, J.H. and Timoney, J.F. : Hagan and Bruner's Infectious Diseases of Domestic Animals. Cornell Univ. Press, USA, (1981) pp.568~572
6. Guftason, D.P. : Pseudorabies in Diseases of Swine (5th ed.) edited by Leman, A.D. et al., Iowa State Univ. Press, USA, (1981) pp.209~223.
7. Hill, T.H., Crandell, R.A., Kanitz, C.L., McAdaragh, J.P., Seawright, G.L., Solorzana, R.F. and Stewart, W.C. : Recommended minimum standard for diagnostic tests employed in the diagnosis of pseudorabies (Aujeszky's disease), Proc. Annu. Meet. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagn. (1977) pp.375~390
8. Hsiung, G.D. : Diagnostic Virology, 3rd ed., Yale Univ. Press, USA (1982) pp. 17~34.
9. Johnson, R.H. : Rinderpest in tissue culture, I. Methods for virus production. Brit. Vet. J. (1962) 118 : 107.
10. Johnson, R.H. : Feline panleucopenia virus, III. Some properties compared to a feline herpes virus. Res. Vet. Sci., (1966) 7 : 112.
11. Kaplan, A.S. and Vatter, A.E. : A comparison of herpes simplex and pseudorabies viruses. Virology (1959) 7 : 394.
12. Kuchler, R.J. : Biochemical methods in cell culture and virology. Dowden, Hutchinson & Ross Inc., USA (1977).
13. Mocsári, E., Tóth, C.S., Meder, M., Saghy, E. and Glávits, R. : Aujeszky's disease of sheep : Experimental studies on the excretion and horizontal transmission of the virus. Vet. Microbiol. (1987) 13 : 353.
14. Pensaert, M., DeMeurichy, W. and Van Leeuwe, G. : A porcine enterovirus causing fetal death and mummification, I. Characteristics and identification, Zbl. Vet. Med. (1973) 20 : 52.
15. Reed, L.J. and Muench, H. : A simple method of estimating fifty percent endpoints. Am. J. Hyg. (1938) 7 : 493.
16. Traub, E. : Cultivation of pseudorabies virus. J. Exp. Med. (1933) 58 : 663.
17. 농림수산부 : 가축전염병 발생현황 월보 (1988. 1. 12)
18. 안수환, 권창희, 이증복, 김용희 : 단크론성 항체를 이용한 돼지가성광견병 진단법 개발에 관한 연구. 대한바이러스학회지 (1987) (17) (1) : 45
19. 이증복, 안수환, 김병한, 송재영, 김용희, 설동섭 : 돼지 오제스키병에 관한 연구. I. 감염자돈으로부터 원인체의 분리 및 동정. 대한수의학회지, (1988) 28(1)
20. 全茂炯 : 돼지假性狂犬病的 實際와 對策. 대한수의사회지, (1987) 23 (7) : 433.

## Isolation of Aujeszky's Disease Virus from Affected Piglets in Korea and its Biological Properties

Moo-Hyung Jun, Sung-Whan Cho, Soo-Hwan An\*, Seong-Kuk Park,  
Seog-Min Yoon\*\* and Yong-Kong Ha\*\*

*Department of Veterinary Medicine, Chungnam National University, \*Veterinary Research  
Institute, RDA and \*\*Choongang Animal Disease Laboratory*

### Abstract

A swine farm located in Namyangju, Kyunggi-do was damaged by increased loss due to stillbirth, abortion and high mortality of suckling pig during October to December 1987.

Three piglets of the farm, that were diagnosed clinico-pathologically to be affected with



Aujeszky's disease, were submitted to laboratory to investigate etiological agents. Two strains of Aujeszky's disease virus (ADV) designed as NYJ-I-87 and NYJ-II-87 were isolated from the tissues of brains and lungs. Biological properties of the isolates were investigated. Results obtained throughout experiments are summarized as follows.

1. In primary porcine kidney and PK-15 cells infected with the isolate, NYJ-I-87, the cytopathic effects accompanied with focal degeneration, rounded refractile cells, large syncytia formation and Cowdry type A intranuclear inclusion body were evident.

2. By physicochemical tests, the isolates were found to be chloroform, ether, heat and pH labile, with properties comparable to infectious bovine rhinotracheitis virus. Nucleic acid tests suggest the virus to have a DNA genome. No evidence was obtained for hemagglutinin using erythrocytes from guinea pig, mouse, rat, chickens, dog, goat and human type 0.

3. In serological tests of the sera obtained from ten breeding sows and three affected piglets, all sera showed positive reaction in serum neutralization test, enzyme linked immunosorbent assay, radial immunodiffusion enzyme assay. Titers of serum neutralizing antibody were ranged 8 to 256. In viral neutralization test using known positive serum, the isolates were completely neutralized with the five-fold diluted serum. Antigenic specificity of the isolates infected in PK-15 cell was confirmed by indirect immunofluorescent assay using ADV monoclonal antibody.

4. In the study on virus growth curve in PK-15 cells, the isolate showed the maximum infectivity titers ( $10^{7.2}$  TCID<sub>50</sub>/0.1 ml) on 24 to 48 hrs post infection, and decreasing infectivity between 72 and 96 hrs p. i. .

5. The isolate ( $10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub>/0.1 ml) was inoculated into chorioallantoic membrane of embryonated eggs, peritoneal cavity of mice and subcutis of rabbits. Pocks accompanied with hemorrhage were developed on the CAM. Mice and rabbits were died within 24 to 72 hrs post inoculation, and rabbits showed severe pruritis at the site of inoculation before death.

6. In accordance with epizootiological backgrounds of the affected herd, cytopathology, physicochemical properties, serology and animal inoculation tests, the isolates were identified as pathogenic strains of Aujeszky's disease virus.