

## 오제스키병의 생체 조기진단을 위한 돼지 비세포 및 순환백혈구내 면역세포화학적 바이러스 항원동정

문운경·조희택·김순복·서정향\*  
경남가축위생시험소  
경상대학교 수의과대학\*  
(1993년 2월 25일 접수)

### Immunocytochemical identification of Aujeszky's disease viral antigens in nasal and circulating white blood cells from experimentally infected living pigs for early diagnosis

Oun-kyong Moon, Hee-tack Cho, Soon-bok Kim, Jung-hyang Sur\*

*Kyongnam Veterinary Service Laboratory  
College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University*

(Received Feb 25, 1993)

**Abstract** : Forty day old piglets were intranasally inoculated with 2ml of Aujeszky's disease virus (NYJ-1-87 strain,  $10^{7.0}$  TCID<sub>50/0.2ml</sub>), and the viral antigens were detected in nasal and circulating white blood cells for 20 days after inoculation by immunocytochemical method.

Antibody titers in the blood were also detected by neutralizing test and Aujeszky's disease serodiagnostic kit(Choong Ang) in this periods.

1. Viral antigens were detected by the immunocytochemical technique, and positive reactions were observed in nasal cells from the 2nd to the 10th days after inoculation and circulated white blood cells from the 4th to the 12th days after inoculation.

2. In neutralization test antibodies levels showed titers of 2 on the 8th day, 8 on the 15th day, 16 on the 18th day and 32 on the 20th day after inoculation. In serodiagnostic kit test positive reactions were observed after the 15th day after inoculation.

**Key words** : early immunocytochemical diagnosis, Aujeszky's disease virus antigens nasal cell and circulating WBC.

### 서 론

오제스키병은 1902년 헝가리의 Aujeszky에 의해 처음으로 보고된 질병으로써 herpesviridae에 속하는 오제스키병 바이러스에 의해 발병되는 전염병이다. 거의 모든 포유동물에게 자연감염 또는 인공감염이 가능하며 감수성 숙주의 영역이 넓고, 폐사율이 높은 무서운 질병으

로써 소양감, 경련 및 마비 등과 같은 신경증상 등을 일으킨다. 돼지는 자돈에서 폐사율이 높고, 모돈에서는 유사산을 일으키며 성돈에서는 불현성감염 또는 잠복감염상태로 존재하는 경우가 많다. 잠복감염돈은 장기간 또는 일생동안 바이러스 보유동물로 존재하면서 환기불량 및 사양실의 그리고 각종의 스트레스를 받게 되면 세포내에 존재하고 있던 바이러스 입자가 증식하여 재할

성화된 병원성 오제스키병 바이러스를 배출시킴으로써 새로운 전염원 구실을 하여 감수성 숙주에 전파시키게 된다.<sup>1~7</sup>

돼지 오제스키병의 진단을 위하여 현재 이용되고 있는 진단법으로는 통상적 방법인 임상 및 병리학적 검사와 실험동물 접종법, 바이러스 분리동정, 혈청학적 검사 그리고 면역조직화학적 방법 등이 있다.

본 실험에서는 감염하여 상당한 기간이 지난 후에 진단이 가능한 혈중항체 검사법이나 검사에 많은 시간과 경비를 요하는 원인체 분리동정법 그리고 도살 부검하여야 실험이 가능한 병리학적 및 면역조직화학적 검사 등의 기존 방법들의 결점을 보완하여, 감염초기에 살아 있는 개체로부터 특이성이 우수한 면역조직화학 기법을 이용한 바이러스 항원을 검출하는 생체조직진단법을 개발코자 자돈의 비강에다 국내 분리 돼지 오제스키병 바이러스(NYJ-1-87 strain)를 접종한 후 시기별로 비강상피세포와 순환백혈구에서 면역세포화학적 방법으로 오제스키병 바이러스항원을 검출하였으며, 동시에 혈청중화시험과 혈청진단키트(PAD-kit; 중앙가축전염병연구소)를 이용한 혈중항체검사를 병행하였다.

### 재료 및 방법

**실험동물:** 혈청진단키트시험에서 오제스키병 항체 음성으로 판정된 40일령 랜드레이스 자돈 3두에다 인공 감염시킨후 20일간 매일 비강상피세포와 순환백혈구를 동시에 채취하여 실험에 사용하였다.

**세포 및 바이러스:** 돼지 오제스키병 바이러스(ADV, NYJ-1-87 strain)를 PK-15 cell line에 3대 계대증식한 후  $10^{7.0}$ TCID<sub>50</sub>/0.2ml 수준의 ADV를 돼지 비강내 각각 1ml씩 총 2ml를 접종하였다.

**1차 항체:** 가토 항오제스키병 바이러스 고도면역혈청(rabbit anti ADV/HIS)은 토끼로부터 자체생산한 것과 Dr. Ducatelle(Belgium, Ghent University)로부터 분양받아 이용하였으며, 단크론성항체(mouse anti ADV/MCA; 6, 30, 37)는 가축위생연구소 유전공학연구소에서 생산한 것을 분양받아 사용하였다.

**혈액 및 혈청채취:** 1회용 주사기로 전대정맥으로부터 무균적으로 혈액을 10ml 정도 채취하여 1~1.5ml를 혈액학적 검사를 위해 EDTA가 들어있는 채혈병에 넣고 3~6ml는 alserver용액이 든 원심관에 동량으로 혼합한 후 백혈구를 분리하였으며, 전혈 일부는 혈청진단키트 흡착지에 묻힌 후 건조시켜 항체검출을 위해 보관하였고 나머지는 응고시킨후 혈청을 분리하여 56℃에서 30분간 비등화한 다음 20℃ 냉동고에 보관하면서 중화항체시험에 사용하였다.

**비강상피세포 면역염색<sup>8~11</sup>:** 멸균된 면봉으로 접종돈의 비강세포를 swab한 후 식염수나 MEM배양액이 들어있는 캡시험관에 보관한 다음 2% dimercaptoethanol을 첨가하여 1000rpm으로 원심하여 상층액을 버린 후 식염수로 적당량 희석하여 Cytospin(Shandon, England)으로 10분간 1000~3000rpm 정도로 원심하여 슬라이드에 비강상피세포를 부착시킨 다음 공기중에서 가볍게 건조시킨후 10분간 아세톤으로 고정하여 Tris buffer saline, pH7.6(TBS)로 수세한 후에 25분간 0.3% 과산화수소수 메탄올 용액에 처리하였으며, 2차 항체에 대한 비특이적 반응을 줄이기 위해 2% 정상산양혈청으로 10분간 전처리한 다음 1차 항체로서 mouse anti-ADV/MCA 또는 rabbit anti-ADV/HIS을 2% 정상산양혈청으로 100~300배 희석하여 60~120분간 감작시킨 후 5분간씩 TBS로 3회 수세하였다. 그리고 나서 2차 항체로서 goat anti-mouse IgG와 goat anti-rabbit IgG(Sigma)를 TBS로 100배 희석하여 60분간 반응시킨 후 5분간씩 3회 수세하였다. 이어서 3차 항체로서 mouse PAP 또는 rabbit PAP(Sigma)을 TBS로 200~300배 희석하여 60분간 반응시킨후 5분간씩 3회 수세한 다음 TBS 100ml에 3.3' dianinobenzidine, tetrahydrochloride (DAB, Sigma) 10mg으로 혼합한 다음 여과하여 30% 과산화수소수 원액을 16.6μl를 떨어뜨린 후 실온에서 약 5~20분간 발색시켰으며, 이때 발색정도를 광학현미경으로 관찰하면서 적당한 반응시간을 선택하여 슬라이드를 수세하였고 일부는 헤마톡실린-에오진으로 대조염색하여 마운팅 하였다. 면역염색의 대조로서 1차 항체 무처리군과 항체음성인 도축장의 건강한 돼지로부터 채취한 비강상피세포를 함께 관찰하였다.

**순환백혈구 면역염색<sup>9,11~13</sup>:** 순수하게 분리된 백혈구 표면을 식염수로 세척한 후 다시 희석한 다음 Cytospin(Shandon, England)에 10분간 1000~3000rpm으로 원심하여 슬라이드에 부착시킨 다음 실온에서 가볍게 건조시켜 10분간 아세톤으로 고정후 잠시동안 TBS로 수세한 다음 0.5% periodic acid로 3분간 처리하여 TBS으로 5분간 3회 수세하였고, 25분간 0.3% 과산화수소 메탄올 용액에 처리 후 TBS으로 5분간 3회 수세한 다음 10분간 2% 정상산양혈청으로 전처리 하였다. 전처리 과정을 마친 슬라이드를 1차 항체로서 mouse anti ADV/MCA 또는 rabbit anti-ADV/HIS을 2% 정상산양혈청으로 100~300배 희석하여 60~120분간 감작시킨후 5분간씩 3회 수세하였다.

그리고 2차 항체로서 goat anti-mouse IgG 또는 goat anti-rabbit IgG(Sigma)를 TBS로 100배 희석하여 60분간 반응시킨 후 5분간씩 3회 수세하였다. 이어서 3차 항

체로서 mouse PAP 또는 rabbit PAP(Sigma)을 TBS로 200~300배 희석하여 60분간 반응시킨 후 5분간씩 3회 수세한 다음 3.3' diaminobenzidine, tetrahydrochloride (DAB, Sigma)로 비강세포에서와 같은 방법으로 발색 대조염색하였다. 이때 대조로서 1차 항체 무처리군과 항체음성인 도축장의 건강한 돼지로부터 채혈한 순환백혈구를 함께 관찰하였다.

**혈청중화시험<sup>14,15</sup>** : MEM 배양액을 96 well microplate의 전 well에 혈청희석용 배지를 50  $\mu$ l 씩 분주한 다음 시기별로 채취한 가검혈청을 임의로 설정한 최초의 well에 각각 50  $\mu$ l 씩 넣고 2배 단계씩 희석한 후 표준 오제스키병 바이러스를 50  $\mu$ l 씩 각 well에 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 감작시킨 후 PK-15 cell을 소화시킨 다음, 10% 소 태아혈청을 함유한 배지에서 3 $\times$ 10<sup>5</sup> cells/ml 수준으로 희석하여 각 well에 100  $\mu$ l 씩 분주하고 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하면서 3~5일동안 도립현미경으로 CPE 출현여부를 관찰하였다.

**돼지 오제스키병 진단키트 실험** : 채혈시에 전혈을 흡착지에 묻혀 건조시킨 다음 혈청진단키트(PAD kit ; 중앙가축전염병연구소) 사용설명서에 따라 실험을 실시하였다.

## 결 과

**임상증상** : 오제스키병 바이러스를 접종한 다음날부터 일부돈은 미약한 발열과 식욕부진을 보였다. 2일째부터는 발열을 동반한 간헐적인 기침과 식욕부진, 변비, 혈뇨 등의 증세를 나타내었으며, 접종 3~4일째부터 체온이 41~42 $^{\circ}$ C에 달하면서 접종돈 전두수가 비강으로부터 많은 점액성 분비물과 함께 격심한 호흡곤란, 식욕절폐, 근진전 및 운동실조가 관찰되었고 특히 일부 접종돈은 간헐적 발작, 패달링운동, 선회운동, 배부만곡 및 견좌자세 등의 신경증상과 유연, 구토, 운동실조, 안면부 진전, 이빨을 갈고 응시조건 등을 나타냈었으며 접종후 6일에는 돼지 오제스키병의 전형적인 임상조건을 보였던 감염돈 1두가 폐사하였고, 체온은 접종

8~9일경부터 하강하기 시작하여 접종 13~14일경에는 거의 정상으로 회복되었다.

**혈액학적 소견** : 전대정맥으로 부터 채혈한 혈액을 시험기간내 검사한 결과 개체의 평균 총적혈구수는 6.53~9.00 $\times$ 10<sup>6</sup>/ $\mu$ l 수준이었고, 총백혈구는 접종 2일경에는 15.4~17.4 $\times$ 10<sup>3</sup>/ $\mu$ l 으로 약간 증가하다가 접종후 3~6일 사이에는 11.0~14.1 $\times$ 10<sup>3</sup>/ $\mu$ l 으로 감소추세를 보였고, 회복기인 접종 8~9일경 이후부터 15.0~18.8 $\times$ 10<sup>3</sup>/ $\mu$ l 으로 증가한 후 접종 14~15일경 이후부터서는 14.6~16.0 $\times$ 10<sup>3</sup>/ $\mu$ l 를 보였다. 그리고 시험전기간을 통해 측정된 PCV는 평균 25~40%였었다.

**바이러스 항원등정** : 오제스키병 바이러스를 비강 접종한 후 20일간 매일 비강상피세포와 순환백혈구를 면역세포화학적 방법으로 오제스키병 바이러스 항원검출을 시도한 결과 비강상피세포에서 접종 2일째부터 시험돈 3두중 2두에서 갈색의 양성반응세포를 관찰할 수 있었으며(Fig 1), 접종 9~10일 사이에는 시험돈 2두중 1두에게서만 갈색의 양성반응세포를 관찰할 수 있었고(Fig 2), 접종 11일째 부터는 갈색의 양성반응세포의 발색정도가 아주 미약하거나 관찰되지 않았다.

순환백혈구에서는 접종 4일째에 시험돈 3두중 2두에서 갈색의 양성반응세포를 관찰할 수 있었으며(Fig 3), 접종 5~10일까지는 전두수에서 갈색의 양성세포를 검출할 수 있었다(Fig 4). 그리고 접종 11~12일 사이에는 2두중 1두에서만 갈색의 양성반응세포의 발색정도가 아주 미약하거나 관찰되지 않았다.

혈청중화시험과 진단키트를 이용한 비교실험은 Table 1에서 보는 바와 같이 혈청중화시험에서는 접종 8일째 처음으로 세포변성효과를 관찰할 수 있었고, 이 시기의 항체역가는 2배였으며 접종 10일째의 항체역가는 4배였었다. 접종 15일경에는 항체역가가 8배 수준이었다. 혈청진단키트를 통하여 항체보유돈인 양성개체를 확인할 수 있었던 갈색의 양성반응환은 항체역가가 8배 수준인 15일경부터서 계속적으로 관찰할 수 있었으며, 접종 20일에는 항체가 수준이 32였었다.

**Table 1.** Immunocytochemical identification of viral antigens and serological test for diagnosis of Aujeszky's disease in experimentally infected living pigs

Specimens	Dats after infection										
	1	2	3	4	6	8	10	12	15	18	20
Nasal cell	0/3	2/3*	3/3	3/3	3/3	2/2	1/2	0/2	0/2	0/2	0/2
Circulating WBC	0/3	0/3	0/3	2/3	3/3	2/2	2/2	1/2	0/2	0/2	0/2
PAD Kit**	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/2	0/2	0/2	2/2	2/2	2/2
Neutralization						2***	4	4	8	16	32

\* : No. of Pigs showing positive reation/No. of pigs tested.

\*\* : Serodiagnostic Kit(Choong Ang).

\*\*\* : Antibodies were detected in all 2 pigs tested from the 8th day after infection.

## 고 찰

이 실험의 바이러스 접종돈은 오제스키병의 전형적인 임상증상과 일치하였으며<sup>1, 2, 14, 15</sup>, 병리조직학적 검사에서 관찰된 중추신경계의 비화농성뇌염, 교세포증가 및 집적현상, 신경세포식 현상, 위관성 원형세포침윤과 신경세포의 호산성 핵내봉입체 등의 소견은 타 연구자들의 성적과<sup>16-21</sup> 일치하는 것이었다.

돼지 오제스키병 바이러스의 자연감염은 비강점막이나 구강점막을 통해서 이루어지며 감염된 바이러스는 상부호흡기관인 편도선, 비강 및 인후두부 등의 점막상피세포의 세포막을 침입하여 세포내에서 1차 증식하는데 주로 핵내증식하며 이때의 변화로써 Cowdry type A형의 핵내봉입체를 형성한다. 이렇게 증식된 바이러스는 18시간 후 증식한 세포로부터 나와 혈류를 따라 입파성 장기에 한국성 괴사를 유발하며, 상부기도 점막을 통해 기관과 폐에 침입하여 간질성 폐염 및 괴사를 일으키고 삼차신경, 후각신경, 설인두 신경 등을 통과하여 24~48시간 이내에 중추신경조직인 뇌조직에 침입하여 뇌막염, 뇌염 및 척추염을 일으킨다. 또한 모돈은 자궁에 태반감염을 일으켜 태아흡수, 미이라화, 유산 및 사산을 일으키는 것으로 알려져 있다.<sup>21-23</sup>

McFerran과 Dow<sup>6</sup>는 비강내로  $10^{6.5}$ TCID<sub>50</sub>/0.5ml 수준의 오제스키병 바이러스 1ml를 분무한 후 48일간 매일 비강을 swab하여 바이러스 분리실험을 한 결과 이유돈에서 바이러스 분리는 바이러스 분비량이 많을 경우 24시간 이내 비강에서 바이러스 분리를 하였고, 접종 2일경부터 바이러스가 분비하기 시작하여 접종 6일경에 극기에 달한 후 대부분 접종 10일경에 바이러스 분비가 중단되었다고 보고하였으며 본 실험에서는 접종 2일째부터 10일째까지 비강상피내에서 오제스키병 양성반응세포를 관찰할 수 있어 바이러스 분리성과 서로 일치하였다.

비강상피세포 탈락과 치유에 관한 연구로는 Baskerville et al<sup>18</sup>이 NIA-1 strain과 NIA-2 strain을 비강점종하여 비점막의 한국성괴사가 일어남을 관찰하였다. 접종 24~28시간 후부터 0.1~2mm 정도 크기의 괴사반이 형성되며 접종 5일경부터 치유반응이 나타나기 시작하여 접종 8일경에는 섬모를 가지는 상피세포의 재생이 일어난다. 그리고 10일경부터 goblet cell이 증가되기 시작하며 접종 12일경에는 점막과유층에 육아조직의 형성이 촉진되면서 괴사부위를 치유하여 정상으로 회복된다고 보고하였다. 본 실험에서 바이러스 분비가 왕성한 접종 초기에는 상피세포 회수율이 높았고 접종 10일 이후부터는 회수율이 현저히 낮아 양성반응세포 관찰이 매우

어려웠던 점은 회수시기에 따른 비강상피세포의 탈락과 치유진행 정도의 차이 때문에 일어난 결과로 생각된다.

Onno et al<sup>8</sup>이 비강상피세포를 슬라이드에 도말하여 immunoperoxidase법을 이용한 실험에서 접종후 3일째부터 7일째까지 양성반응세포를 관찰할 수 있었다고 하였다. 본 실험에서는 접종후 2일째부터 10일째까지 갈색의 양성반응세포를 관찰할 수 있었던 이유는 탈락되는 비강상피세포의 회수율을 높이기 위해 사용했던 Cytospin (Shandon, England)의 효과로 추정되며 그리고 예상과 달리 항원검출기간이 9일간 정도로 짧았던 이유는 비강상피세포 회수율이 감염 극초기 보다 현저히 줄고 또한 계속적으로 swab한 이유와 오제스키병 바이러스 분비시기 및 비강상피세포의 탈락과 치유시기와 항체형성과 깊은 관련이 있는 것으로 여겨지며, 단크론성 항체처리군과 고도면역형성 처리군의 양성반응세포 검출에 있어서는 별다른 유의성은 없었지만 점액분비량이 접종 3일째부터 증가하기 시작하여 점액분비량이 극기에 도달한 접종 후 6~8일 사이에는 단크론성 항체처리군보다 고도면역형성 처리군이 배경염색에서 비특이적 요소가 많았다.

MaFerran과 Dow<sup>5</sup>는 Hungarian strain에서 viremia가 현저하게 일어나는 것으로 보고하고 있으며 Hurst<sup>24</sup>는 Iowa strain은 viremia가 일어나지 않고 실험적으로 계대를 했을 경우는 혈액수송에 적응하는 경향이 있다고 보고하고 있다. 지금까지의 많은 연구자들에 의하면 각종 오제스키병 바이러스 strain에 대한 viremia증명실험에서 Koves와 Hirt<sup>25</sup> 및 Comer<sup>4</sup>는 viremia를 일으키지 않는 strain이라도 세포에 수대 계대하면 viremia를 일으킨다고 보고하고 있고 특히 박 등<sup>15</sup>은 국내 분리주인 NYJ 1-87 strain에서 viremia를 확인하지 못하였다고 보고하고 있다. 한편 본 실험에서 병행하였던 혈액내에서 시기별 바이러스 항원과 항체검출을 위해 면역세포화학적 방법과 혈청중화시험을 이용한 결과, 면역세포화학적 방법을 통한 실험에서는 순환백혈구에서 접종후 4일경부터 접종 후 12일경까지 오제스키병 바이러스에 감염된 갈색의 양성반응세포를 관찰할 수 있었던 점으로 미루어 보아(NYJ-1-87 strain도 대부분의 바이러스처럼 viremia를 일으키는 strain으로 여겨지며 순환백혈구의 면역세포화학적 항원동정법은 이 병의 조기진단에 널리 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

본 실험의 혈청중화시험에서 혈중항체는 접종 8일째에 2배 15일째는 8배였다. 국내 방역당국에서 사용 권장되고 있는 오제스키병 혈청진단키트는 항체역가가 8배 이상일때에만 검출이 가능하기 때문에 본 병의 급성 감염기의 양성돈 색출이나 환돈의 병성감정 목적으로

로는 사용될 수 없을 것으로 생각되며 본 실험에서도 증상이 거의 완화된 후 회복기에 들어간 접종 15일째 이후부터 혈청진단키트에서 양성반응환이 관찰되기 시작되었다.

본 병의 효과적인 방역대책수립에 있어 혈청중화시험이나 혈청진단키트를 이용한 양성돈의 색출은 최소한 감염 8일 또는 15일 이후부터 비로소 가능하기 때문에, 감염세포내에서 직접 항원을 검출하는 면역세포화학 기법을 병행하여 실시한다면 감염초기의 이환돈 색출이 가능하여 전술한 방법들의 단점을 보완할 수 있을 것으로 생각된다. 그리고 기존의 면역조직화학 기법들이 환축을 도살한 후 시료를 절취하였던데 반해 본 방법은 살아있는 개체로부터 시료를 채취하기 때문에 경제적으로도 매우 유리한 잇점을 가진다고 하겠다.

## 결 론

국내에서 분리된 오제스키병 바이러스(NYJ-1-87

strain)를 40일령된 랜드레이스 자돈의 비강으로  $10^{7.0}$  T-CID<sub>50</sub>/0.2ml 수준으로 2ml씩 접종하여 인공감염시킨 후 20일동안 면역세포화학적 방법으로 비강상피세포 및 순환백혈구에서 바이러스 항원동정을 실시하였으며 이때 혈청중화시험 및 혈청진단키트를 이용한 항체검사를 병행하였다.

1. 면역세포화학적 방법을 이용한 바이러스항원 검출은 비강상피세포내에서 접종 2일째부터 관찰되기 시작하여 10일째까지 양성반응을 관찰할 수 있었으며, 순환백혈구에서는 접종 4일째부터 12일째까지 관찰되었다.

2. 혈청중화시험에서는 접종 후 8일째부터 항체가 검출되기 시작하였으며 8일째 2배, 15일째 8배, 18일째 16배, 20일째 32배 수준이었다. 혈청진단키트 시험에서는 항체가 수준이 8배인 접종 15일째 이후부터 양성반응을 관찰할 수 있었다.

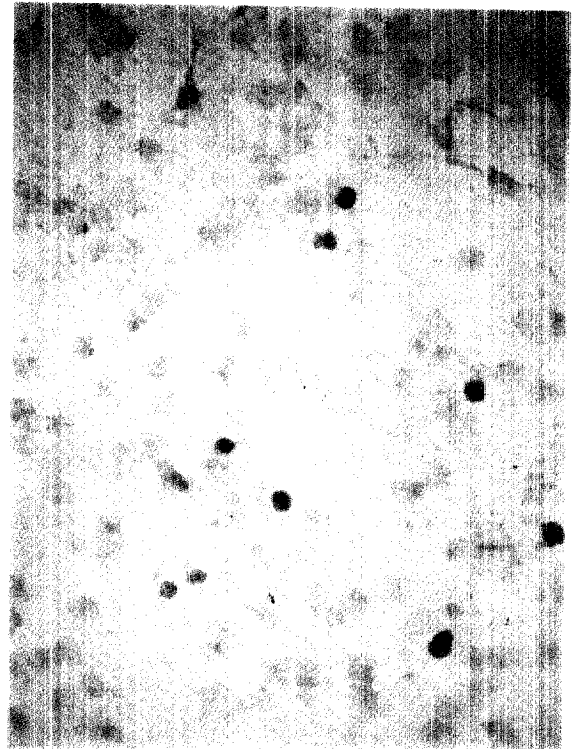
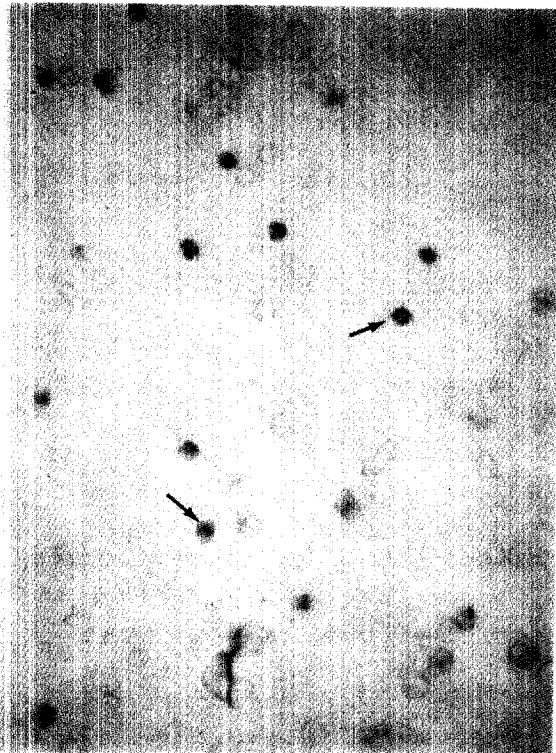
## Legends for figures

All are immunostained with PAP method.

- Fig 1. Dark brown deposits, indicating the presence of viral antigen, appeared in both the cytoplasm and nucleus of nasal cell. 2nd day after inoculation.  $\times 125$ .
- Fig 2. Positive cells showed an accumulation of brown fine granules. Usually both the cytoplasm and the nucleus are positive for viral antigen. ADV infected nasal cells. 6th day after inoculation.  $\times 125$ .
- Fig 3. Intense brown deposits, indicating the presence of viral antigen, appeared in the nucleus of white blood cells. 4th day after inoculation.  $\times 125$ .
- Fig 4. Positive cells were scattered in the white blood cells. The nucleus were often more intensely stained than the cytoplasm of white blood cells. 10th day after inoculation.  $\times 125$ .

## 참 고 문 헌

1. Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, et al. The herpesviridae in Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. *Cornell Univ Press USA* 8th ed. 1988 : 615~622.
2. Baskerville A, McFerran JB, Dow C. Aujeszky's disease in pigs. *Vet Bull* 1973 ; 43 : 465~480.
3. Traub E. Cultivation of pseudorabies virus. *J Exp Med* 1933 ; 58 : 663~681.
4. Corner AH. Pathology of experimental Aujeszky's disease in piglets. *Res Vet Sci* 1965 ; 6 : 337~343.
5. McFerran JB, Dow C. the distribution of the virus of Aujeszky's disease (Pseudorabies virus) in experimentally infected swine. *Am J Vet Res* 1965 ; 26 : 631~635.
6. McFerran JB, Dow C. The excretion of Aujeszky's disease virus by experimentally infected pigs. *Res Vet Sci* 1964 ; 5 : 405~410.
7. Baskerville A. The influence of dose of virus on the clinical signs in experimental Aujeszky's disease in pigs. *Br Vet J* 1972 ; 128 : 394~401.
8. Onno M, Jestin A, Nicolas JC. Rapid diagnosis of Aujeszky's disease in fattened pigs by direct immunoperoxidase labelling in nasal cells. *Vet Med Rev* 1988 ; 59 : 152~156.
9. Ducatelle R, Coussemont W, Hoorens J. Immunoperoxidase study of Aujeszky's disease in pigs. *Res Vet Sci* 1982 ; 32 : 294~302.



10. Matsuoka T, Kurihara T, Konosu Y, et al. Demonstration of Aujeszky's disease virus antigen in naturally infected cattle by immunoperoxidase method. *JPN J Vet Sci* 1987 ; 49 : 725~727.
11. 문운경, 조희택, 김순복. Peroxidase antiperoxidase (PAP) 복합체를 이용한 돼지 콜레라의 면역조직화학적 진단. *대한수의학회지* 1990 ; 30 : 435~440.
12. Kim SB. Immunohistochemistry for detection of Aujeszky's disease virus antigen : Immunogold silver method in tissue sections. *Korean J Vet Res* 1988 ; 28 : 365~369.
13. Allan GM, McNulty MS, Todd D, et al. The rapid detection of Aujeszky's disease virus in pigs by direct immunoperoxidase labelling. *Vet Micro* 1985 ; 10 : 481~486.
14. 전무형, 조성환, 안수환 등. 이환자돈으로부터 오제스키병 바이러스 분리와 생물학적 성상. *대한수의학회지* 1988 ; 24(3) : 163~171.
15. 박정우, 전무형, 안수환. 국내 분리 Aujeszky's disease virus의 실험적 감염자돈에 대한 바이러스학적 연구. *대한수의학회지* 1990 ; 30 : 177~186.
16. Csontos L, Szeky A. Gross and microscopic lesions in the nasopharynx of pigs with Aujeszky's disease. *Acta Vet Acad Sci Hunga* 1966 ; 16 : 175~185.
17. Dow C, McFerran JB. The pathology of Aujeszky's disease in cattle. *J Comp Path* 1962 ; 72 : 337~347.
18. Baskerville A, McCracken RM, McFerran JB. The histopathology of experimental rhinitis in pigs produced by a strain of Aujeszky's disease virus. *Res Vet Sci* 1971 ; 12 : 323~326.
19. 진영화, 강문일, 권영방 등. 오제스키병 바이러스 접종돈의 병리소견과 감염조직내 바이러스 검출에 관한 연구. *농사시험연구논문집* 1989 ; 31 : 30~37.
20. 황의경, 진영화, 권영방 등. 돼지 오제스키병의 국내 발생예에 관한 병리학적 관찰. *농사시험연구논문집* 1989 ; 31 : 24~29.
21. 김순복, 곽수동, Wittmann G, 등. 가성광견병에 대한 병리학적 연구. I. 인공감염돈의 병리조직학적 소견. *대한수의학회지* 1986 ; 22 : 194~298.
22. 전무형. 돼지 가성광견병의 실제와 대책. *대한수의학회지* 1987 ; 23(7) : 433~447.
23. Dow C, McFerran JB. The neuropathology of Aujeszky's disease in the pig. *Res Vet Sci* 1962 ; 3 : 436~442.
24. Hurst EW. Studies on pseudorabies(infectious bulbar paralysis, mad itch). I. Histology of the disease, with a note on the symptomatology. *J Exp Med* 1933 ; 58 : 415~433.
25. Koves J, Hirt G. Uber die Aujeszky'sche Krankheit der schweine. *Arch Wiss Prakt Tierheilk* 1934 ; 68 : 1~23.