

下痢仔豚 糞便에서 Rotavirus 分離 同定

金熙善 · 崔晶鈺 · 金斗熙* · 柳瑩銖* · 安壽煥*

전남대학교 수의과대학

가축위생연구소*

(1988. 1. 27 접수)

Isolation and Identification of Porcine Rotavirus from Piglets with Diarrhoea

Hee-sun Kim, Chung-ok Choi, Doo-hee Kim*

Young-soo Lyoo* and Soo-hwan An*

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University

Veterinary Research Institute, Rural Development Administration*

(Received Jan. 27, 1988)

Abstract: Twenty-eight porcine rotavirus were isolated from piglets with diarrhoea in chonnam province.

According to the age, 41 to 60 day old pigs showed the highest isolation frequency among the post weaning pigs.

The characteristics of the field isolates were determined by electronmicroscopy(EM), immunofluorescent assay(FA), and electrophoretic migration patterns of the genome profiles.

Some of the isolates showed remarkable haemagglutination activity against rabbit and dog erythrocytes, ranged from 4 to 2848, respectively.

At least 3 serotypes of porcine rotavirus were recognized by serum neutralization test using serotype specific rotavirus hyperimmune sera.

서 론

돼지 Rotavirus에 대해서는 Woode 등(1975)이 최초로 기술한 이래 Rodger(1975 a)이 설사를 하는 하리자돈 분변에서 같은해에 분리보고를 한 후 여러 나라에서(Fukusho 등, 1981; McNulty, 1978; 1976) 계속 분리보고가 이루어지고 있다.

이 바이러스는 Reoviridae(Middleton, 1978)에 속하며 Flewett 등(1974)이 차바퀴 모양의 Capsomere배열을 보고서 Rotavirus라고 제안하여 이렇게 부르게 되었다.

돼지는 어느 일령에서나 이 바이러스에 감염될 수

있지만 설사와 발육저하 등 경제적인 손실을 초래하는 것은 주로 어린일령 즉 2일부터 56일 사이의 자돈이다(Woode 등, 1986; 1975). 이 바이러스는 자돈의 장관에 감염되어 용모상피세포 변성 및 괴사(Middleton, 1978)를 일으켜 Lactose분해효소의 결핍과 Na^+ 운반체에 변화를 일으킴으로써 설사를 유발하는 것으로 여기고 있다(Ulter 등, 1984).

이 바이러스는 단독으로도 설사를 유발할 수도 있지만 다른 병원체 즉, 전염성 위장염 바이러스나(Saif 등 1977) 장친화성 대장균 및 콕시듐 원충 등(Roberts 등 1980)과 복합감염이 되었을 때 더욱 심한 설사를 유발한다.

이 바이러스는 초기에 *In vitro* 배양이 잘 안되었기 때문에 주로 무균 돼지를 이용하여 바이러스 분리 및 성장조사가 이루어졌으나 최근에 바이러스 재료를 Pancreatic enzyme으로 처리하고 초대 배양 돼지 콩팥세포(Theil 등, 1977)와 원숭이 콩팥 유래 주화세포인 MA104배양세포(Bohl, 1979)에 접종한 결과 세포변성(CPE)과 높은 바이러스 증식성을 갖는다는 것을 확인하였다. 그 후 여러사람(Almeida와 Hall, 1978; Spendolve와 Schaffer, 1965)이 세포배양액에 trypsin을 가해서 바이러스를 계대배양했을 때 감염성과 증식성이 증가한다는 보고를 하였다.

돼지 rotavirus는 형태학적으로(McNulty, 1976; Flawett 등, 1974) 다른 동물에서 분리한 Rotavirus와 유사하지만 교차중화시험으로 2개(Bohl 등, 1984)에서 7개(Fukusho 등, 1981) 혈청형으로 분류하고 있으며 RNA를 전기영동하여 3개(Chasey 등, 1986)에서 4개(Albert 등, 1987)의 Electrophoretotype으로 나누고 있다.

Rotavirus중의 일부는 포유동물과 조류의 적혈구를 응집하는 혈구응집능이 있으며 숙주동물의 종류와 분리주에 따른 응집능력의 차이가 보고된 바 있다(Fukusho 등, 1981; Spence 등, 1976).

한국에서 이 바이러스에 대한 연구는 조성만(1984)이 최초로 자돈하리 분변에서 전자현미경적으로 바이러스를 확인하였으며 김용희 등(1987)은 자돈하리 분변에서 분리한 돼지 Rotavirus가 일본에서 분리한 S-80주와 혈청학적으로 유사하다고 보고하였다.

이 연구는 전남지방의 2개 대형양돈장에서 정기적으로 채취한 자돈하리분변에서 로타바이러스 분리를 시도하였으며 분리된 바이러스의 증식성과 혈구응집능, 혈청형 및 Electrophoretotype 등의 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

하리변 채취 : 사육규모가 20,000두인 G양돈장과 5,000두인 S양돈장의 2개 양돈장에서 생후 60일 이하의 자돈 하리분변을 돈당당 10g정도 채취하였다.

분변처리 : 바이러스분리를 용이하게 하기 위하여 채취한 자돈하리분변은 Fukusho 등(1981)의 방법을 변형하여 처리를 실시하였다. 즉 분변재료 부유액을 초음파처리하고 2,000~3,000rpm에서 2번 원심하여 채취한 상층액을 바이러스 분리재료로 사용하였다.

세포배양 및 바이러스분리 계대 : 세포배양 및 바이러스분리, 계대는 Fukusho 등(1981)이 기술한 방법에 준하였다. 즉 전술한 바이러스 분리를 위한 분변처리액을 Trypsin처리 후(10 μ g/ml)단층이 형성된 CV₁세

포에 접종하고 Trypsin이 미량(0.5 μ g/ml)함유된 배지를 첨가하여 3일간 회전배양을 시행하였으며 가검재료의 계대는 동일한 방법으로 수행하였다. 형광항체법에 의해 최종 확인된 돼지 Rotavirus 야의 분리주 중 5주를 한계 희석법에 의하여 cloning하였다.

형광항체반응 : 형광표지 항돼지로타바이러스 Conjugate는 미국국립수의검사소(National Veterinary Service Laboratory)에서 분양받아 사용하였다. 가검재료를 5대 계대배양한 후 CPE 유무와 상관없이 모든 재료에서 돼지 로타바이러스 항원 존재여부를 최종 확인하였다.

분리주의 혈청형 검사 : 야외에서 분리한 돼지 Rotavirus의 혈청형을 동정하기 위하여 Fukusho(일본가축위생시험장)로부터 제공받은 6가지형의 돼지 Rotavirus 표준면역혈청을 이용하여 5개의 분리주와 중화시험을 Fukusho 등(1981)이 기술한 방법에 준하여 시행하였다.

바이러스의 증식성 조사 : 분리된 5주의 바이러스에 대한 증식성을 Imagawa 등(1984)이 기술한 방법에 따라 조사하였다. 증식성 조사에서 5개 야의 분리주 중 역가가 가장 높은 S138주와 가장 낮은 G147주를 선택하여 세포에 접종후 시간에 따른 증식성을 OSU주와 비교하였다.

혈구응집반응 : 분리바이러스의 혈구응집성을 조사하기 위하여 Cattle, Pig, Dog, Chicken, Rabbit, Guinea Pig 및 Human 0 type 적혈구를 사용하였으며 혈구응집반응은 Inaba 등(1977)의 방법에 따라 실시하였다.

야외 분리주의 Electrophoretotype조사 : 돼지 Rotavirus RNA의 전기영동 pattern을 조사하기 위해 Chasey 등(1986)이 기술한 방법에 의해서 Virus를 농축하였다. 핵산추출 및 전기영동은 Peacock와 Dingman(1967)이 기술한 방법에 준해서 수행하였다. 즉 RNA는 Phenol-chloroform처리에 의해서 추출하였고, 7.5% polyacrylamide gel에서 20mA, 20시간동안 Bromphenol blue를 marker로서 전기영동을 실시한 후 Silver nitrate 염색을 하고 로타바이러스의 특징적인 Band의 Pattern을 조사하였다.

결 과

계절별 일령별 돼지 Rotavirus분리율 : Table 1에서 나타낸 바와같이 총 85에 자돈하리분변에서 28예(33%)의 돼지 Rotavirus가 분리되었다. 계절별 분리율은 가을과 겨울에 높았고 봄, 여름은 낮은 편이었지만 유의성 있는 차이는 보여주지 않았다. 총 28예중 초대계대에서 CPE를 나타내는 예는 3예, 2대계대에서 5예, 3대

Table 1. Isolation of Porcine Rotavirus on Seasonal Basis

Season	Month	No. of sample	No. of isolates	(%)
Spring	3~5	14	3	(21)
Summer	6~8	17	4	(23)
Fall	9~11	23	10	(43)
Winter	12~2	32	11	(34)
Total		85	28	(33)

Table 2. Isolation of Porcine Rotavirus from Piglets Showing Diarrhoea Under 60 Days of Age

Ages	No. of piglets with diarrhoea	No. of isolates(%)
1~20	4	2(50)
21~30	30	10(33)
31~40	39	9(23)
41~60	12	7(58)
Total	85	28(33)

계대에서 9예, 4대계대에서 6예로서 분리 바이러스의 82%가 4대계대에서 CPE를 나타냈다(Table 3). 3예에서 5대까지 계대하여도 CPE를 나타내지는 않았으나 형광항체반응에 의해서 Rotavirus 양성으로 판명되었다. 분리 바이러스를 CV₁세포에 배양한 후 Rotavirus 특이 형광항체로 염색하였을 때 감염 12시간만 되어도 세포질내에서 강한 형광을 발하는 뚜렷한 형광염색을 볼 수 있었다(Figs. 6, 7). 그러므로 Rotavirus가 아닐 때 형광항체 음성의 경우(Fig. 5)와 쉽게 구별할 수 있었다. 분리 바이러스는 감염 12시간 부터 CPE를 관찰할 수 있었는데 정상세포(Fig. 2)에 비하여 감염세포는 원형으로 변하여 내부의 혼탁도가 점점 증가하면서 더욱 진행되면 세포용해가 나타나거나 탈락하여 공동을 형성하는 양상을 나타내었다(Figs. 3, 4). 일반적으로 감염후 48시간이 지나면 심한 세포탈락현상을 보였으며 전자현미경에 의해서 직경 70nm의 전형적인 Rotavirus를 관찰할 수 있었다(Fig. 8).

60일령 이하의 자돈하리분변에서 돼지 Rotavirus 분리율은 Table 2에서 보는 바와같이 41일령에서 60일령 사이의 자돈하리 분변에서 분리율이 가장 높았으며(58%), 생후 20일령까지에서는 4예중 2예(50%), 21일령에서 30일령사이의 변에서는 30예 중 10예에서(33%) 분리되었다. 한편 31일령부터 40일령 사이에서 39예중

Table 3. Appearance of Cytopathic Effect(CPE) on CV₁ Cells Depending on the Passage Levels of Rotaviruses Isolated from Pigs

Passage level	No. of samples Showing CPE	
	Yes	No
1	3	25
2	8	20
3	17	11
4	23	5
5	25	3

Table 4. Virus Titer of Porcine Rotavirus Isolates

Isolates*	Titer(log TCID ₅₀ /0.1ml)
S-80	6.50
OSU	6.00
S138	7.25
G147	4.50
G145	4.75
G99	6.75
G184	5.75

*Virus at 11th passage level, cloned.

9예로(23%) 가장 낮은 분리율을 나타냈다.

바이러스 증식성 조사 : 분리주 5주의 역가를 비교한 결과 log TCID₅₀역가가 4.5에서 7.25를 나타냈고, 도입주는 6.0~6.5의 역가를 보여주었다(Table 4). 바이러스를 배양세포에 접종후 시간별 증식성을 조사한 성적은 Fig. 1에 나타난 바와같이 분리주 S138, G147 모두 접종후 6시간에 바이러스증식이 인정되었으며 S137주는 24시간에 최고치에 도달해 10^{8.8}TCID₅₀/0.1ml를 나타냈고 그대로 유지하다가 36시간 후에 감소하기 시작했다. G147주는 접종후 18시간에 최고치에 도달해 10^{6.75}TCID₅₀/0.1ml를 나타냈고, 36시간후에 감소되기 시작했다. 2주 모두 접종 12시간부터 CPE를 관찰할 수 있었으며 세포농축 및 탈락이 36시간부터 서서히 일어났다. 반면 OSU주는 접종후 12시간에 최고치에 도달해 10^{8.75}TCID₅₀/0.1ml를 나타냈으며 그후 역가는 급격히 하강하였다. CPE출현이 12시간만에 관찰된 것은 본 시험에서 분리한 분리주와 같았으나 24시간후에 세포의 완전탈락이 이루어지는 것이 이 시험에서 분리한 분리주와 차이를 보였다.

혈청형 검사 : 이 시험에서 분리한 바이러스주에 대한 혈청형을 조사하기 위해 여러 분리주중에서 G농장

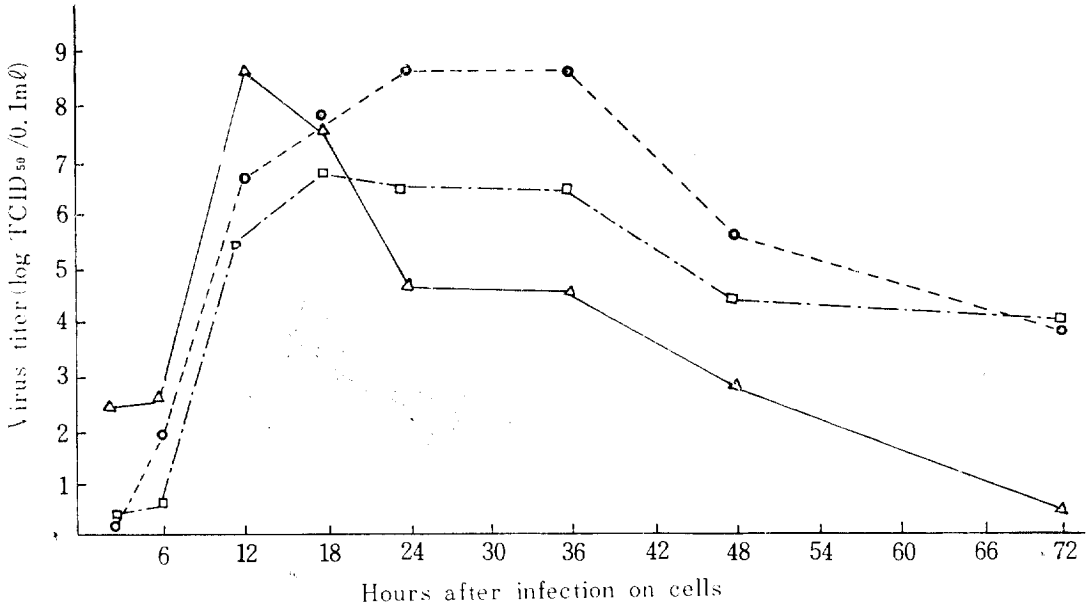


Fig. 1. Growth curve of rotavirus isolates.
 \triangle - \triangle : OSU, \circ - \circ : S138, \square - \square : G147

에서 계절별로 1주씩 4주, S농장에서 분리주 1주를 선발하여 총 5주에 대해서 일본에서 도입한 6개형의 양성혈청에 대해서 중화시험을 실시한 결과는 Table 5와 같다. 일본에서 Fukusho가 1형으로 분류한 S-80형혈청에 대해서는 분리주 G147과 G145 2개주가 5120의 중화가를 보여 동종간의 중화가와 동일한 역가를 보여주었다. 이들 바이러스는 Fukusho가 VI형으로 분류한 S-8156형혈청과도 상당히 강한 반응을 보였으며 특히 G147은 S-80형혈청보다 한 단계 높은 중화항체가를 보여주었다. 미국에서 도입한 표준주인 OSU주에 대해서는 동종간에 5120을 나타낸 반면 G99가 640의 중화항체가를 보였다. 혈청형 III형인 군에는 동종형이 보이

지 않았다. IV형인 S-8123형혈청에는 분리주 S-138이 강한 반응을 보였고, V형인 S-816에는 G-184와 S-138이 높은 중화항체가를 보였다. 이상의 중화시험 성적에서 국내 분리주중 5개주가 Fukusho가 분류한 6개의 항혈청 중에서 4개 또는 5개의 항혈청과 중화되는 것으로 보아 최소한 3개 이상의 혈청형이 존재하는 것으로 보인다.

혈구 응집능: 분리주의 혈구 응집능은 Table 6과 같다. 표준주 OSU는 Pig, Dog 및 Human O Type 적혈구를 응집한데 비해 분리주는 Dog, Rabbit 적혈구에 강한 응집능을 보였다. G145와 G136은 Rabbit 적혈구에 강한 응집능을 보인 반면, Pig적혈구에 대해서는 약한

Table 5. Neutralization of Porcine Rotavirus Isolates against Standard Antisera

Antisera (Serotype)	Serum neutralization titer by virus isolates						
	S138	G184	G147	G145	G99	OSU	S-80
S-80 (I)	20	40	5120	5120	20	20	5120
OSU (II)	320	80	80	20	640	5120	80
Z (III)	80	80	20	20	20	80	20
S-8123 (IV)	1280	40	80	20	20	20	20
S-816 (V)	2560	1280	640	20	20	20	20
S-8156 (VI)	40	80	10240	1280	80	40	640

Table 6. Hemagglutination Ability of Porcine Rotavirus Isolates

RBC	Hemagglutination titer of virus isolates				
	OSU	G145	G136	G135	G193
Cattle	2	2	2	2	2
Pig	32	8	6.5	5	4
Rabbit	4	2848	1424	64	32
Dog	32	2	712	712	1424
Chicken	2	2	2	2	4
Guinea pig	6	2	64	ND*	ND
Human	16	2	12	ND	ND

* : Not done.

응집가 밖에 나타나지 않았다.

야외분리주의 **Electrophoretotype**조사 : 6개 분리주에서 추출한 각각의 RNA를 전기영동한 결과는 Fig. 9와 같다. 6개주가 모두 동일한 이동 양상을 보여 주고 있으며 8개의 Band가 뚜렷히 보이고 있는데 이는 대조로 사용한 표준주 OSU와 동일한 양상을 보인 것으로 두겹게 보이는 Band는 2~3개의 Band가 합하여 그렇게 보인 것이다. 그러므로 Segment수는 OSU와 동일한 11개이다.

고 찰

자돈하리분변으로부터 조직배양 세포를 이용하여 Rotavirus를 분리할 수 있게 된 것은 최근에야 가능하게 되었다. 서론에서 언급한 바와같이 바이러스 분리 재료에 Pancreatic enzyme를 첨가시킴으로써 (Estes 등, 1981; Thei과 Bohl, 1980) 바이러스 감염율과 증식성이 현저히 증가하며 CPE가 형성된다는 것이 보고된 이래 실험실에서 바이러스 분리가 용이하게 이루어지게 되었다.

이 시험에서 이용한 바이러스 분리방법에 의해 초대에서 CPE가 관찰되었으며 계대를 증가시킴에 따라 CPE출현율이 현저히 증가하였다. 대부분 분리주는 4대 계대정도에서 CPE를 일으켰으며 CPE출현이 빨라서 접종후 12시간만에 최초 CPE를 관찰할 수 있었다. 이것은 Bohl 등(1984)이 MA104세포에서 초대계대에 관찰한 CPE발현시간과 일치하였다.

이 조사에서는 자돈하리분변 중에서 28주의 Rotavirus가 분리되어(33%) Benfield 등(1984)이 보고한(41%) 결과보다는 낮게 관찰되었다. 한편, 브라질(Sigolo De San Juan 등, 1986)(21.8%)과 베네주엘라(Uiter 등, 1984)에서(22%) 보고한 것에 비하면 높은 편인데

그곳은 열대지방이기 때문에 기후의 영향으로 바이러스 감염율이 온대지방인 우리나라보다 낮은 것으로 추측된다. 조성만(1984)이 겨울에만 분리된다고 한 것은 이 시험에서 연중 분리되는 것과는 차이가 있는데 재표수집 방법, 양돈장, 분리방법 등의 차이에서 비롯되는 것으로 보이며 이 시험에서의 성적은 일단 집단 양돈장에 바이러스가 감염되는 경우 연중 바이러스가 존재한다는 것을 증명해 주고 있다. 일령에 따른 분리율에는 60일령까지 사이에 큰 차이가 없었으나 41~60일령 사이에 분리율이 가장 높은 것은 Ultera 등(1984)이 모체 이행항체가 급격히 떨어지는 시기인 이유후 3~4주에 Rotavirus감염율이 가장 높다는 보고와 유사하다고 볼 수 있다.

전자현미경에 의한 소견은 Saif 등(1977)과 Palmer 등(1977)의 보고와 유사하였다. Fig. 8에서 나타낸 바와같이 외층을 명확하게 구별할 수는 없었으나 약 70 nm정도 크기를 가진 차바퀴 모양의 전형적인 Rotavirus가 관찰되었다.

분리된 돼지 Rotavirus중 cloning한 5주의 Rotavirus를 가지고 중화시험을 실시한 결과 최소한 3개 이상의 혈청형이 존재한다는 것을 관찰하였다. Fukusho 등(1981)이 일본에서 분리한 돼지 Rotavirus를 교차중화 시험하여 7개 이상의 혈청형으로 분류하였고, Bohl 등(1984)은 2개의 혈청형으로 분류한 바 있다. 우리나라도 더 많은 바이러스 분리주를 이용하여 교차중화시험을 실시하면 명확한 혈청형의 존재를 확인할 수 있을 것으로 생각된다. 김홍희 등(1987)은 국내에서 분리한 돼지 Rotavirus가 일본에서 분리한 S-80주와 혈청학적으로 유사하다고 보고하였는데 이 연구에서도 중화시험에 의해 2주가 S-80주와 동일한 중화가를 보이는 것으로 보아 전남지방에도 S-80과 같은 형이 분포한다는 것을 증명한다.

Fukusho 등(1981)은 일본에서 분리한 돼지 Rotavirus(S-80주)를 MA104세포에 10^7 TCID₅₀/ml를 접종하여 세포와 배양액에서 Rotavirus 증식성을 조사하였는데 배양액에서 접종후 18시간에 최고치에 도달하여 $10^{7.6}$ TCID₅₀/ml바이러스 역가를 나타내었으며 400TCID₅₀/0.1ml바이러스양을 접종하였는데도 Fukusho 등과 유사한 증식곡선과 역가를 보인 것은 이 시험에서 분리한 Rotavirus의 CV₁세포에서의 증식성이 일본에서 분리한 주에 떨어지지 않는다는 것을 보여 주고 있다. 미국에서 도입한 OSU주가 접종후 12시간만에 최고치에 도달한 다음 역가가 떨어지는 것은 급격한 세포탈락 때문으로 생각된다.

이 조사에서 분리된 돼지 Rotavirus는 Dog와 Rabbit

의 적혈구에 모두 강한 응집능을 보여 주었다. 반면 Human O Type이나 Pig적혈구에 대해서는 낮은 응집능을 나타냈다. Fukusho 등(1981)이 분리한 돼지 Rotavirus(S-80주)는 Human O type 및 Pig, Guinea pig 적혈구에 응집가를 나타낸 반면 Cattle, Horse, Sheep, Chicken, Guinea pig, Hamster적혈구에 대해서 혈구 응집능을 나타내지 않았다. 이렇게 본 시험에서 분리한 주의 혈구응집능은 주에 따라 큰 차이를 보이고 있다. 예를 들면 G193과 같은 경우 Dog의 적혈구에 강한 혈구응집능을 갖는데, G145는 Dog의 적혈구에는 거의 응집능이 없고 Rabbit의 혈구에 강한 혈구응집능을 보이는 현상은 흥미있는 일로서 어떤 항원성의 차이에 의한 것인지 앞으로 더 많은 연구가 필요하다.

분리 바이러스 6주에서 RNA를 추출하여 전기영동하였을 때 분절의 수는 모두 11개로서 10개의 분절로 구성된 Reovirus(Kalika 등, 1978)와는 뚜렷히 구분되었다. chasey 등(1986)은 Rotavirus RNA를 전기영동하여 3개의 Electrophoretotype로 분류한 바 있다. 최근에 Albert 등(1987)은 RNA전체 분절의 이동 거리가 짧아지며 혈청학적으로 지금까지와 전혀 다른 Rotavirus를 관찰한바 있다. 이 조사에서 분리된 Rotavirus CPE 출현시간, 증식성, RNA분절의 전기영동양상에 의해서 몇개의 Electrophoretotype에 속하는지를 조사하였으나 전부가 Group A에 속하였다. 더 많은 분리 바이러스에 대해서 Electrophoretotype을 조사하여 Group A이외의 다른 Group에 속하는 바이러스의 분포 유무를 밝혀야 할 것이다.

결 론

이 조사는 전라남도 지역의 2개 대형 양돈장에 대해

주기적으로 방문하여 자돈하리분편을 채취, 조직배양 세포를 이용 Rotavirus분리를 시도하였으며 혈청형, 혈구응집성, 전자현미경을 이용한 형태적인 관찰 및 Electrophoretotype을 조사하여 요약한 것으로 성적은 다음과 같다.

1. 총 85예의 자돈하리분편중 28예(33%)에서 Rotavirus가 분리되었다.

2. 계절별 분리율은 봄에 14예중 3예(21%), 여름 17예중 4예(23%), 가을 23예중 10예(43%), 겨울 32예중 11예(34%)의 분리율을 보였으며 계절에 따른 분리율의 유의차는 인정되지 않았다.

3. 일령별 분리율은 41~60일령에서 12예중 7예(58%)로 가장 높았고, 1~20일령은 4예중 2예(50%), 21~30일령은 30예중 10예(33%), 31~40일령은 39예중 9예(23%) 순이었다.

4. 분리 바이러스의 혈청형은 표준양성 혈청을 이용하여 중화시험을 실시하였을 때 3가지 이상이 관찰되었다.

5. 분리바이러스는 Dog, Rabbit적혈구와 강한 혈구 응집능을 보였고, Guinea pig 및 Human O type 적혈구에 중등도의 응집능을 보였으며 Cattle, Chicken의 적혈구에 대한 응집능은 거의 인정되지 않았다.

6. 분리바이러스는 전자현미경적으로 전형적인 Rotavirus형태를 보였으며 직경이 70nm정도의 크기를 보였다.

7. 분리바이러스의 RNA를 전기 영동하여 Band의 이동 양상을 조사한 결과 11개의 Band를 보였고 모두 Group A에 속하였다.

Legends for Figures

Fig. 2. Uninfected control of CV₁ cell lines. ×100.

Fig. 3. CPE in CV₁ cells infected with G147 field isolate, 12 hours after inoculation, ×100.

Fig. 4. CPE in CV₁ cells infected with G147 field isolate, 18 hours after inoculation, ×200.

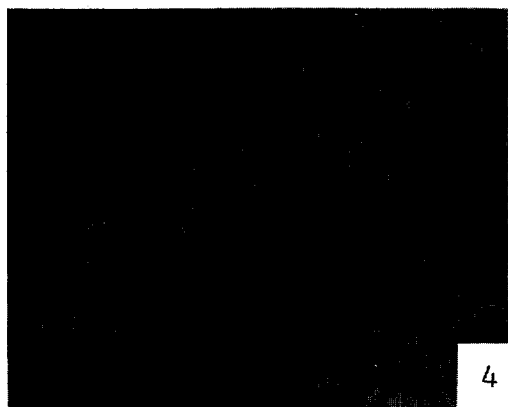
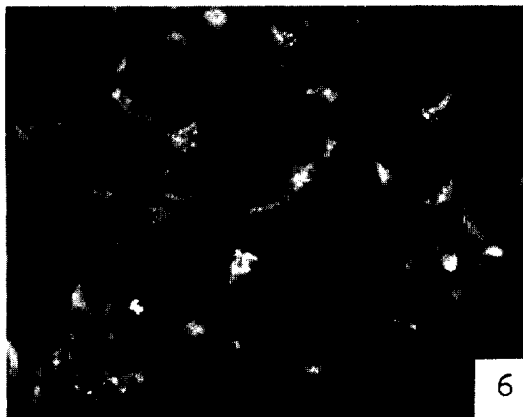
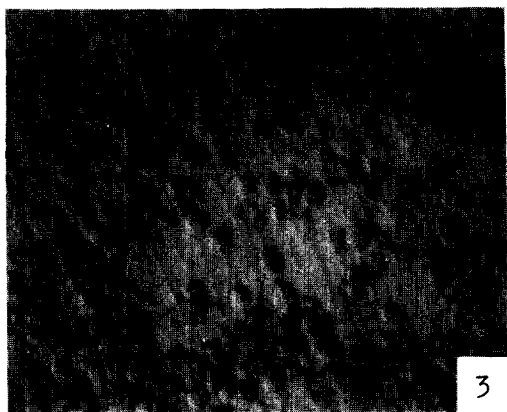
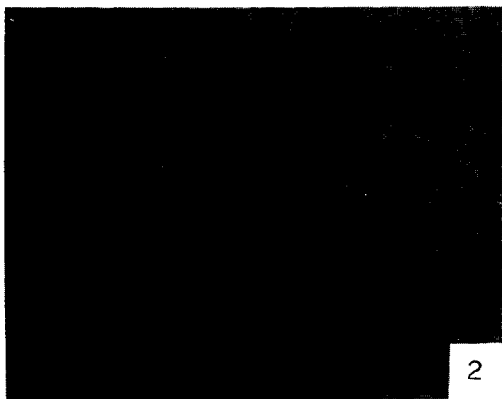
Fig. 5. Immunofluorescence pattern of normal CV₁ cells, ×268.

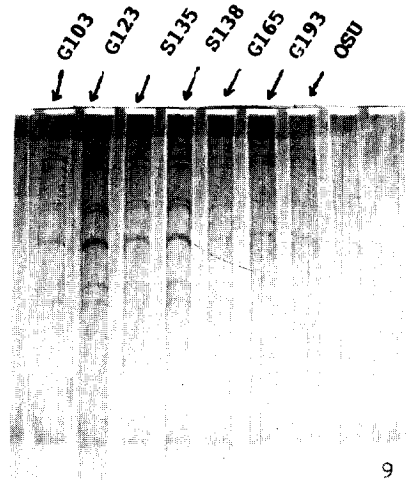
Fig. 6. Immunofluorescence pattern of G145 field isolate infected CV₁ cell line, after 12 hours inoculation, ×268.

Fig. 7. Immunofluorescence pattern of G145 field isolate infected CV₁ cell line, after 12 hours inoculation, ×400.

Fig. 8. Electronmicrograph of negatively stained porcine rotavirus particle, ×130,000.

Fig. 9. Electrophoretic patterns of porcine rotavirus field isolates analyzed on a 7.5% polyacrylamide gel.





참고 문헌

Almeida, J.D. and Hall, T. (1978) The effect of trypsin on the growth of rotavirus. *J. Gen. Virol.*, 40:213~218.

Albert, M.J., Umicomp, L.E. and Bishop, R.F. (1987) Cultivation and characterization of human rotaviruses with "Super short" RNA pattern. *J. Clin. Microbiol.*, 25:183~185.

Bohl, E.H. (1979) Rotaviral diarrhoea in pigs. *Brief Review. J. A. V. M. A.*, 174:613~614.

Benfield, A., Stotz, I.J., Nelson, E.A. and Groom, K.S. (1984) Comparison of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay with electron microscopy, fluorescent antibody, and virus isolation for the detection of bovine and porcine rotavirus. *Am. J. Vet. Res.*, 45:1988~2002.

Bohl, E.H., Theil, K.W. and Saif, L.J. (1984) Isolation and serotyping of porcine rotavirus and antigenic comparison with other rotaviruses. *J. Clin. Microbiol.*, 39:105~111.

Chasey, D., Bridger, J.C. and McCrae, M.A. (1986) A new type of atypical rotavirus in pigs. *Arch. Virol.*, 89:235~243.

Estes, M.K., Graham, D.Y. and Mason, B.B. (1981) Proteolytic enhancement of rotavirus infectivity molecular mechanisms. *J. Virol.*, 39:879~888.

Flewett, T.H., Bryden, A.S., Davies, H., Woode, G.N. and Bridger, J.C. and Derrick, J.M. (1974) Relation between viruses. *Lancet.*, 18:61~63.

Fukusho, A., Shimizu, Y. and Ito, Y. (1981) Isolation of cytopathic porcine rotaviruses in cell roller cultures in the presence of trypsin. *Arch. Viro.*, 69:49~60.

Inaba, Y., Sato, K., Takahashi, E., Satoda, K., Amori, T. and Matumoto, M. (1977) Haemagglutination with nebraska calf diarrhoea virus. *Microbiol. Immunol.*, 21:531~534.

Imagawa, H., Wada, K., Akigama, Y. and Oda, T. (1984) Isolation of equine rotaviruses in cell cultures from foals with diarrhoea. *Japn. J.*

- Vet. Sci., 41:1~9
- Kalika, A.R., Wyatt, R.G. and Kapikian, A.Z. (1978) Detection of differences among human and animal rotavirus, using analysis of viral RNA. J. A. V. M. A., 173:531~537.
- Middleton, P.J. (1978) Pathogenesis of rotaviral infection. J. A. V. M. A., 173:544~546.
- McNulty, M.S. (1978) Review article rotaviruses. J. Gan. Virol., 40:1~18.
- McNulty, M.S., Pearson, G.R., McFerran, J.B., Collins, D.S. and Allan, G.M. (1976) A reovirus-like (rotavirus) associated with diarrhoea in neonatal pigs. Vet. Microbiol., 1:55~63.
- Peacock, C. and Dingman, W. (1967) Resolution of multiple ribonucleic acid species by polyacrylamide gel electrophoresis. Bioche., 6:1818~1827.
- Palmer, E.L., Martin, M.L. and Murphu, F.A.L. (1977) morphology and stability of infantile gastroenteritis virus, comparison with reovirus and blutongue virus. J. Gan. Virol., 53:403~414.
- Rodger, S.M., Craven, J.A. and Williams, I. (1975 a) Demonstration of reovirus-like particles in intestinal contents of piglets with diarrhoea. Aust. Vet. J., 51:536.
- Roberts, L., Walker, E.J., Smpdgrass, D.R. and Angus, K.W. (1980) Diarrhoea in unweaned piglets associate with rotavirus and coccidial infections. Vet. Rec., 16:156~157.
- Spence, L., Fauvel, M., Petro, R. and Bloch, S. (1976) Haemagglutinin from rotavirus. Lancet., 6:1023~1024.
- Sigolo De San Juan, C., Bellinzoni, R.C., Mattion, N., Latorre, J. and Scodeller, E.A. (1986) Incidence at group A and atypical rotaviruses in brazilian pig herds. Res. Vet. Sci., 41:270~272.
- Spendolve, R.S. and Schaffer, F.L. (1965) Enzymatic enhancement of infectivity of reovirus. J. Bacteriol., 89:597~602.
- Saif, L.J., Bohl, E.H., Kohler, E.M. and Hughes, J.H. (1977) Immune electron microscopy of transmissible gastroenteritis virus and rotavirus (reovirus-like agent) of swine. Am. J. Vet. Res. 38:13~20.
- Theil, K.W. and Bohl, E.H. (1980) Porcine rotaviral infection of cell culture effects of certain enzymes. Am. J. Vet. Res., 41:140~143.
- Theil, K.W., Bohl, E.H. and Agenes, A.G. (1977) Cell culture propagation of porcine rotavirus (reovirus-like agent). Am. J. Vet. Res., 38:1765~1768.
- Ulter, V., Mazzali De Ilja, R., Gorziglia, M. and Esparaza, J. (1984) Epidemiological aspects of porcine rotavirus infection in venezuela. Res. Vet. Sci., 36:310~315.
- Woode, G.N. (1986) Porcine rotavirus infection. 6th ed., Iowa State Univer. Press, 368~382.
- Woode, G.H., Bridger, J.C. and Hall, G.A. (1975) Rotavirus infection of pigs. 3rd., Int. Cong. Virol. Madrids, p.6.
- 김용희, 이오수, 최정엽. 안수환(1987) 돼지 Rotavirus 역학조사 및 분리. The rural development administration, 294:129~133.
- 조성만(1984) 돼지 Rotavirus 분리 배양에 관한 연구. 농어촌개발연구지, 19:1~15.