

# 마우스 및 랫트의 Sendai virus, mouse hepatitis virus, *Mycoplasma pulmonis* 感染에 대한 補體結合反應과 酵素標識免疫吸着測定法과의 比較

鄭由烈·李學喆\*·李 垠\*·兪炳三\*

韓國放送通信大學 農學科·嶺南大學校 農畜產大學\*

(1989. 8. 11 접수)

## Comparison on serological reaction between complement fixation test and enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies against Sendai virus, mouse hepatitis virus and *Mycoplasma pulmonis* in mice and rats

Yoo-yeul Chung, Hak-cheul Lee\*, Eun Lee\*, Byung-sam Yoo\*

Department of Agriculture, Korea Air and Correspondence University

College of Agriculture and Animal Science, Yeungnam University\*

(Received Aug 11, 1989)

**Abstract:** This study was undertaken to establish reliable diagnostic-procedures for the microbiological monitoring of laboratory animals.

Murine(mice and rats) antibodies against hemagglutinating virus of Japan(HVJ), mouse hepatitis virus(MHV) and *Mycoplasma pulmonis*(Mp) were detected sensitively and specifically in experimentally and naturally infected animals' sera by an indirect enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA), using urease conjugated antimurine immunoglobulin.

The sensitivity and specificity of the complement fixation test which has been applied widely for serodiagnosis of HVJ, MHV and Mp infections were apparently lower than those of ELISA.

From these results, the ELISA was found to be available for the serodiagnosis of HVJ, MHV and Mp infections in mice and rats.

**Key words:** serodiagnosis, murine antibodies, immunoglobulin.

### 緒 論

오늘날 生物科學研究上 切實히 요구되는 高品質 實驗動物의 開發을 위한 微生物모니터링에 있어 管理, 飼育되는 動物을 대상으로 感染 및 病原性을 나타내는 모든 微生物에 대하여 恒常 反復檢査한다는 것은 事實上 어려운 일이다.<sup>1</sup>

따라서 管理動物에 대해서 가장 普遍的인 汚染과 장

한 傳染性을 나타내는 病原體의 1,2種을 택하여 正確性과 特異性이 극히 높은 檢査方法으로 檢定하여 動物管理의 正常與否를 가려내어 高品質 實驗動物의 開發에 對處해 나갈 수 있다면 매우 效果的인 微生物모니터링의 實際運營方式이라 아니 할 수 없다.<sup>1</sup>

實驗動物로서 가장 널리 使用되는 마우스와 랫트에 있어서 上記와 같은 特性을 지니는 微生物로는 hemagglutinating virus of Japan(HVJ; 마우스 및 랫트),<sup>2-4</sup>

mouse hepatitis virus(MHV; 마우스),<sup>2-4</sup> *Mycoplasma pulmonis*(Mp; 마우스 및 랫트)<sup>3,5,6</sup>를 들 수 있다. 그러나 이들 3種 微生物感染에 대한 集團의 診斷에 이 때까지 應用되어 왔던 補體結合反應은 反應感度, 特異성에 있어 滿足스러운 成績을 얻지 못하고 있으므로<sup>6-11</sup> 새로운 血清反應의 導入이 要望되고 있다.

한편 酵素標識免疫吸着測定法(enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA)<sup>12,13</sup>에 의한 抗體檢出은 從來 施行되어 왔던 어느 血清學의 方法보다 反應感도와 特異性, 迅速性 그리고 經濟性 등에 있어서 많은 優秀성을 지니고 있을뿐 아니라 이 方法의 應用에 의하여 微量抗體의 檢出 또는 많은 檢體의 迅速處理가 可能해진 例들이 많다.

本 研究은 이러한 여러 事項과 아울러 上記 3種 微生物의 感染診斷에 대한 最近의 研究動向<sup>2,8,9,14-16</sup>을 감안하여 보다 效果의인 血清學의 診斷法을 確立하기 위하여 遂行되었으며, 특히 Chandler et al<sup>17</sup>이 報告한 urease 標識抗體를 應用하는 ELISA法에 의하여 由來가 알려진 實驗感染 또는 自然感染마우스 및 랫트血清을 對象으로 從來에 應用되어 왔던 CF反應과 比較, 檢討하였다.

## 材料 및 方法

**試驗對象血清:** 日本, 國立豫防衛生研究所(豫衛研)에서 분양받았으며, 다음과 같이 由來가 밝혀진 마우스 및 랫트血清을 供試하였다. 1. 마우스血清; 分讓받은 14例血清中 5例는 Mp를 實驗感染시켜 10週 經過한 動物群에서 由來하고, 3例는 HVJ. Mp污染動物群에서 由來한 것이며, 나머지 6例는 MHV에 陽性으로 判定된 것이다. 2. 랫트血清; 分讓받은 14例血清中 5例는 MHV에 대해서 陽性, HVJ와 Mp에 대해서 陰性으로 判定된 것이고, 또 다른 5例는 HVJ와 Mp污染動物群에서 由來한 것이며, 나머지 4例는 ELISA에 의하여 HVJ, MHV, Mp에 대해서 陽性으로 判定된 것이다.

**抗原과 對照血清:** 1. CF反應; 日本, Denka生研株式會社(Denka研)製의 HVJ, MHV, Mp抗原과 對照마우스 및 랫트血清을 各各 使用하였다. 2. ELISA; 日本, 豫衛研에서 分讓받은 HVJ, MHV, Mp抗原과 對照마우스 및 랫트血清을 各各 使用하였다.

**血清反應用稀釋液 및 기타 試藥:** 1. CF反應; 稀釋液으로는 5×Veronal緩衝液(VBS)을 使用하였고 그밖에 2.5%緬羊血球浮遊液, 抗緬羊乾燥溶血素(Denka研製), 乾燥補體(Denka研製)를 各各 使用하였다. 2. ELISA; 1) 塗抹緩衝液—pH 7.6炭酸緩衝液, 2) 洗滌用磷酸緩衝液(PBS)—Tween 20(Sigma) 0.5ml를 添加한 pH

7.4 PBS 1,000ml에 bovine serum albumin(Albumin Fraction V, Bovine; Miles) 1g을 添加한 것, 3) 酵素標識用 PBS—pH 6.8 0.1M PBS, 4) 酵素標識抗體—urease(No. U 0251; Sigma)를 結合시킨 抗 마우스(랫트)Immunoglobulins urease標識家兔抗體, 5) 酵素基質—urease 및 EDTA添加 bromthymol purple水溶液(pH 4.8)을 各各 使用하였다.

**CF反應:** 日本, 豫衛研獸疫部<sup>18</sup>의 方法에 準한 100% 溶血法인 Kolmer法에 의하여 實施하였다. 즉 供試材料의 不足을 念慮하여 주로 56°C 30分間 非動化血清의 5倍稀釋에서 判讀하는 選拔試驗에 의하여었으나 특히 일부 例에서만 血清稀釋 5~160倍(2倍數段階稀釋)범위에서 判讀하는 抗體測定試驗을 實施하였다. 試驗은 事전에 實施한 豫備試驗을 통해서 決定된 4單位抗原量, 25單位溶血素量, 2單位補體量을 各各 使用하여 U型 microplate(TS plate, 豐島製作所, 東京)上에서 150 $\mu$ l system으로 實施하였다.

反應은 供試血清 25 $\mu$ l, 抗原 25 $\mu$ l, 補體 50 $\mu$ l의 순으로 各各 plate의 well에 滴下, 混合한 후 4°C에서 하룻 밤 靜置하였다가 翌日에 感作緬羊血球浮遊液 50 $\mu$ l을 添加하여 判讀하였으며, 血清稀釋 1:5 以上에서 75% 以上の 非溶血이 認定될 때에 이를 陽性, 그 이하 일때를 陰性으로 判定하였다.

**ELISA:** urease標識抗體를 使用하는 Matsubara et al<sup>15</sup>의 間接 ELISA法에 準하여 實施하였다. 즉 U型 microplate의 各 well中央部에 塗抹緩衝液으로 最適濃度로 稀釋한 抗原 5 $\mu$ l씩을 滴下한 다음, 濕箱에서 4°C에 하룻 밤 放置하였다가 翌日에 洗滌用 PBS, 중류수의 순으로 各各 2回씩 洗滌한 후, 非動化하지 않은 可檢血清의 各 well當 殘量이 30 $\mu$ l가 되게 洗滌用 PBS로 5~5,120倍(2倍數段階稀釋)稀釋하였으며, 그 후에 室溫에서 30分間 두었다가 洗滌用 PBS로 4回 洗滌하였다. 그 다음에 urease標識抗體를 well當 20 $\mu$ l씩 滴下, 室溫에서 30分間 두었다가 洗滌用 PBS로 3回, 中류수로 2回 洗滌한 후 最終적으로 尿素基質液을 well當 25 $\mu$ l씩을 滴下한 즉시 film으로 밀봉하여 37°C 30~60分間 두었다가 判讀하였으며, 指示藥의 變化(黃→紫)가 血清稀釋 1:5 以上에서 일어난 것을 陽性으로 認定하였다.

## 結 果

由來가 알려진 供試血清을 對象으로 HVJ, MHV, Mp의 抗體檢出에 대한 ELISA와 CF反應과의 比較試驗結果는 다음과 같다.

마우스血清에 대한 成績: 試驗成績은 Table 1과 같

**Table 1.** Comparison on the sensitivity and specificity of serological reactions between complement fixation test and enzyme-linked immunosorbent assay

Sera	Origin	No.	HVJ <sup>a</sup>			MHV <sup>b</sup>			Mp <sup>c</sup>					
			CF <sup>d</sup>		ELISA <sup>e</sup>	CF		ELISA	CF		ELISA			
			Titer*	Result	Titer	Result	Titer*	Result	Titer	Result	Titer	Result		
Mouse	10 weeks after experimentally	1	>5	(+)**	5	+	>5	(+)	5	+	±	320	+	
	infected with <i>Mp</i>	2	<5	(-)	5	+	<5	(-)	20	+	<5	-	1280	+
		3	<5	(-)	<5	-	<5	(-)	20	+	<5	-	1280	+
		4	<5	(-)	<5	-	>5	(+)	20	+	<5	-	1280	+
		5	<5	(-)	<5	-	<5	(-)	<5	-	<5	-	320	+
Contaminated with HVJ and <i>Mp</i>		1	>5	(+)	320	+	<5	(-)	<5	-	<5	(-)	20	+
		2	>5	(+)	≥5120	+	>5	(+)	320	+	>5	(+)	80	+
		3	>5	(+)	1280	+	>5	(+)	80	+	>5	(+)	80	+
Positive in MHV		1	<5	-	<5	-	<5	-	20	+	<5	-	<5	-
		2	<5	-	<5	-	<5	-	20	+	<5	-	<5	-
		3	<5	-	<5	-	<5	-	5	+	<5	-	<5	-
		4	<5	-	<5	-	<5	-	<5	-	<5	-	<5	-
		5	<5	-	<5	-	<5	-	20	+	<5	-	<5	-
		6	<5	-	<5	-	<5	-	20	+	<5	-	<5	-
Control	Positive		>5	+	1080	+	.	.	.	.	.	.	.	.
	Negative		<5	-	<5	-	.	.	.	.	.	.	.	.

a: HVJ=hemagglutinating virus of Japan, b: MHV=mouse hepatitis virus, c: *Mp*=*Mycoplasma pulmonis*.

d: CF=complement fixation test, e: ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay.

\*: Titers by screening procedure of CF test.

\*\*:( )=anti-complementary action.

**Table 2.** Comparison on the sensitivity and specificity of serological reactions between complement fixation test and enzyme-linked immunosorbent assay

Sera	Origin	No.	HVJ <sup>d</sup>				MHV <sup>b</sup>				Mp <sup>c</sup>					
			CF <sup>a</sup>		ELISA <sup>e</sup>		CF		ELISA		CF		ELISA			
			Titer*	Result	Titer	Result	Titer*	Result	Titer	Result	Titer*	Result	Titer	Result		
Rat	Negative in HVJ and Mp but positive in MHV	1	<5	(-)	***	<5	-	>5	(+)	320	+	>5	(+)	<5	-	
		2	<5	(-)	<5	-	>5	(+)	320	+	<5	(-)	<5	(-)	<5	-
		3	<5	(-)	<5	-	>5	(+)	320	+	>5	(+)	>5	(+)	<5	-
		4	<5	-	<5	-	>5	+	320	+	<5	(-)	<5	(-)	<5	-
		5	<5	-	<5	-	>5	+	320	+	<5	(-)	<5	(-)	<5	-
Contaminated with HVJ and Mp		1	>5	(+)	320	+	>5	(+)	<5	-	>5	(+)	20	+		
		2	>5	+	80	+	<5	-	<5	-	>5	(+)	320	+		
		3	>5	+	320	+	<5	-	<5	-	>5	(+)	320	+		
		4	>5	+	320	+	<5	-	<5	-	<5	(-)	320	+		
		5	>5	+	80	+	<5	-	<5	-	<5	(-)	320	+		
Positive in HVJ, MHV and Mp by ELISA		1	160**	+	≥5120	+	≤5	±	320	+	≤5	±	80	+		
		2	40	+	1280	+	≤5	±	80	+	<5	-	320	+		
		3	40	+	1280	+	<5	-	320	+	<5	-	80	+		
		4	5	+	1280	+	>5	(+)	80	+	>5	(+)	320	+		
Control		Positive	>5	+	320	+	•	•	•	•	•	•	•	•		
		Negative	<5	-	<5	-	•	•	•	•	•	•	•	•		

a: HVJ=hemagglutinating virus of Japan, b: MHV=mouse hepatitis virus, c: Mp=*Mycoplasma pulmonis*, d: CF=complement fixation reaction, e: ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay.

\*: Titers by screening procedure of CF test.

\*\* : Titers by line procedure of CF test.

\*\*\*: ( )=anti-complementary action.

다. 즉 *Mp*를 實驗感染시켜 10週 經過한 마우스群의 5例血清에 대한 試驗에 있어 ELISA에서는 *Mp*에 대하여 全例가 抗體價 320~1,280의 陽性을 나타냈는데 反하여 CF反應에서는 4例가 陰性, 나머지 1例는 凝陽性을 나타내어 ELISA에 比해서 거의 正反對의 極히 不良한 抗體檢出成績이었다. 한편 上記 5例血清中 ELISA에 의하여 MHV陽性인 4例(抗體價 5~20)와 HVJ陽性인 2例(抗體價 5)가 各各 檢出되었는데, CF反應에서는 抗補體作用이 認定되는 各 2例, 1例의 判讀困難(以下 省略)의 陽性과 各 3例, 4例의 陰性이 觀察되었다.

다음으로 HVJ와 *Mp*汚染마우스群의 3例血清에 대한 試驗에 있어 ELISA에서는 全例가 HVJ에 대하여 抗體價 320 $\geq$ 5, 120, *Mp*에 대하여 力價 20~80의 陽性을 各各 나타내었는데, CF反應에서는 HVJ에 대하여 3例 모두가, 그리고 *Mp*에 대하여 2例가 各各 抗補體作用이 認定되는 陽性을 나타내었으며, *Mp*에 대한 1例의 陰性에서도 抗補體作用이 認定되었다. 한편 MHV에 대해서는 ELISA에서 力價 80~320인 陽性 2例와 陰性 1例를 나타내었는데 CF反應에서는 抗補體作用이 認定되는 2例의 陽性과 1例의 陰性이 各各 觀察되었다.

끝으로 MHV에 陽性인 既知의 6例血清에 대한 試驗에 있어 ELISA에서는 MHV에 대하여 1例가 陰性을 나타내었을 뿐 나머지 5例는 모두 力價 5~20의 陽性을 나타내었는데, HVJ, *Mp*에 대해서는 全例가 各各 陰性이었다. 그러나 CF反應에서는 MHV에 대하여 全例가 陰性을 나타내어 ELISA에 比하여 거의 正反對의 極히 不良한 抗體檢出成績이었으며, HVJ와 *Mp*에 대해서는 各各 모두 陰性을 나타내어 ELISA의 成績과 同一하였다.

랫트血清에 대한 成績: 試驗成績은 Table 2와 같다. 즉 MHV에 陽性이고, HVJ와 *Mp*에 대해서는 陰性으로 알려진 5例血清에 대한 試驗에 있어 ELISA에서는 MHV에 대하여 全例 다같이 力價 320인 陽性을 나타내었는데, HVJ와 *Mp*에 대해서는 모두 陰性이었다. 그러나 CF反應에서는 MHV에 대하여 2例만이 明確한 陽性이었을 뿐 나머지 3例는 抗補體作用이 認定되는 陽性을 나타내었다. 한편 HVJ에 대해서는 全例가 抗補體作用을 나타낸 陰性이었고, *Mp*에 대해서도 抗補體作用이 認定되는 3例의 陰性과 2例의 陽性이 觀察되었다.

다음으로 HVJ와 *Mp*汚染랫트群의 5例血清에 대한 試驗에 있어 ELISA에서는 全例가 HVJ에 대하여 力價 80~320, *Mp*에 대하여 力價 20~320인 陽性을 各各 나타내었는데, CF反應에서는 HVJ에 대하여 4例의 陽性과 抗補體作用을 나타낸 1例의 陽性이 認定되었으

며, *Mp*에 대해서는 抗補體作用이 認定되는 3例의 陽性과 2例의 陰性이 觀察되었다. 한편 MHV에 대해서는 ELISA에서 全例가 陰性이었는데, CF反應에서는 1例의 抗補體作用을 나타낸 陽性을 除外하고 나머지 4例는 ELISA와 같이 陰性이었다.

끝으로 ELISA에 의하여 HVJ, MHV, *Mp*에 대하여 陽性으로 알려진 4例血清에 대한 試驗에 있어 ELISA에서는 上記 3種微生物에 대하여 各各 抗體價 1,280 $\geq$ 5, 120, 80~320, 80~320으로 全例가 陽性을 나타내었다. 그러나 CF反應에서는 HVJ에 대하여 全例가 抗體價 5~160으로 陽性을 나타내어 ELISA의 陽性成績과 同一하였으나 力價에는 32~256배나 낮았으며, MHV에 대해서는 2例의 凝陽성과 1例의 陰性, 그리고 1例의 抗補體作用을 나타낸 陽性反應이 認定되었고, *Mp*에 대해서는 1例의 凝陽성, 2例의 陰性, 1例의 抗補體作用이 認定되는 陽性反應을 나타내어 ELISA에 比하여 特異성과 反應感도가 매우 낮은 區區한 成績을 나타내었다.

## 考 察

動物의 不顯性感染摘發에 있어 가장 널리 應用되는 方法은 血清學의 方法에 의한 抗體證明임은 再論의 餘地가 없다.<sup>1,2,18</sup>

實驗動物 중에서 가장 널리 쓰여지는 마우스, 랫트의 HVJ, MHV, *Mp*感染症에 대하여 從來 널리 應用되어온 CF反應은 最近의 여러 報告<sup>6-9, 14-16, 19</sup>를 통해서 볼때 信賴性이 높은 方法으로 看做하기가 어렵다.

本 研究에서 HVJ, MHV, *Mp*感染에 대하여 由來가 알려진 마우스 및 랫트血清을 對象으로 抗體檢出試驗을 實施한 結果는 微生物感染의 來歷에 따라 ELISA에서는 一般的으로 高力價의 該當抗體가 高率로 檢出되어 反應感도와 特異性이 높았으나, CF反應에서는 抗體가 檢出되어도 低力價인 同時에 매우 낮은 檢出率이었으며, 어떤 例에서는 ELISA에서 100%陽性인데 反하여 CF反應에서는 正反對인 100%陰성이기도 하였다. 또한 많은 例에서 抗補體作用이 認定되어 滿足스러운 成績이 아니었는데, 이는 Peters et al<sup>16</sup>가 CF反應을 應用한 MHV感染에 대한 研究에서 成績이 補體濃도에 左右되어 滿足스럽지 못하였던 것과 一致된다.

한편 *Mp*를 實驗感染시켜 10週 經過한 마우스群血清과 MHV와 *Mp*에 汚染된 마우스群血清에 대한 ELISA의 抗體檢出試驗에 있어서 該當病原體의 抗體以外에 HVJ, MHV에 대한 抗體도 檢出된 것은 上記血清以外の 여러 供試血清에 대한 實驗成績과 마우스에 대한 HVJ, MHV의 疫學上으로 보아 非特異反應에 起因된

것이라 보기보다 供試血清採取마우스群이 이미 이들 病原體에도 感染되어 있었기 때문인 것으로 判斷하였다.

以上과 같은 上記 微生物感染에 대한 ELISA와 CF 反應間의 差異는 HVJ에 있어서 Fujiwara et al,<sup>7</sup> Parker et al,<sup>9</sup> MHV에 있어서 Peters et al,<sup>16</sup> Mp에 있어서 Cassell et al,<sup>14</sup> Horowitz와 Cassell<sup>8</sup> 등의 報告와 符合되며, 野口 등<sup>20</sup>은 HVJ抗體檢出에 있어서 ELISA는 從前의 CF反應보다 約 10~100배 높은 檢出率이었음을 報告하였는데, 本研究에서도 全體를 통한 成績이 0~100배 높은 檢出率로서 대체로 一致하였다.

그리고, 本研究에서 應用한 ELISA法은 Chandler et al<sup>17</sup>에 의하여 開發된 urease標識抗體를 使用하는 方法이다. 이 方法은 從來 널리 使用해왔던 horse radish peroxidase(HRP)와 alkaline phosphatase(AP)의 反應에서 갖는 問題點을 除去하기 위하여 開發된 것인데, 이들 代身에 urease를 實地로 應用한 結果는 HRP 또는 AP에서 느리게 形成되는 色調보다 明瞭한 色調變化로서 肉眼으로 쉽게 反應結果를 觀察할 수 있었으며, 이 酵素反應은 少量의 organomeruchia(mathiolate)의 添加에 의하여 反應을 停止시킬 수 있었다.

以上の 考察을 통해서 本研究에서 採擇한 ELISA法은 마우스 및 랫트의 HVJ, MHV, Mp感染에 대한 抗體檢出에 있어서 從前의 CF反應에 比하여 反應感도와 特異성이 매우 높은 信賴性있는 血清學的方法임을 認定하였으며 松原 등<sup>21</sup>의 見解와도 一致하였다.

## 結 論

實驗動物로서 一般的으로 널리 使用되는 마우스와 랫트의 微生物모니터링에 있어 극히 重要하다고 認定되는 hemagglutinating virus of Japan(HVJ), mouse hepatitis virus(MHV), *Mycoplasma pulmonis*(Mp) 感染에 대한 血清學的 診斷方法으로 最近, 특히 注目되는 酵素標識免疫測定法을 導入할 目的으로 上記微生物에 대하여 由來가 알려진 마우스와 랫트血清을 對象으로 urease標識抗體를 利用하는 間接 ELISA法과 從來 應用되어왔던 補體結合(CF)反應을 比較, 檢討하였다. 結果를 要約하면 다음과 같다.

ELISA에서는 一般的으로 高力價의 微生物感染의 來歷에 따르는 該當抗體가 高率로 檢出되어 反應感도와 特異성이 높았으나, CF反應에서는 抗體가 檢出되어도 低力價인 同時에 매우 낮은 檢出率이었으며 많은 例에서 抗補體作用이 認定되어 滿足스러운 成績이 아니었다.

以上の 結果를 통하여 本研究에서 採擇한 ELISA法

은 마우스와 랫트의 HVJ, MHV, Mp에 대한 感染診斷에 매우 信賴性있는 有用한 血清學的方法임을 認定하였다.

## 參 考 文 獻

1. 鎌山直子, 伊藤豊志雄, 野村達次. 實驗動物의 微生物モニタリングマニュアル. 東京: ソフトサイエンス社, 1986;1~6.
2. 岩井法. ウイルス感染病의 모니터링. 實驗動物シムポジウム—實驗動物等の 開發研究의 現狀と問題點. 科學技術廳, 文部省, 理化學研究所, 東京: 라이프サイエンス振興財團編, 1984;6~8.
3. Nakagawa M, Saito M, Suzuki E, et al. Ten years-long survey on pathogen status of mouse and rat breeding colonies. *Exp Anim* 1984;33:115~120.
4. Suzuki Y, Matsubara J, Saito M, et al. Serological survey of laboratory rodents for infection with Sendai virus, mouse hepatitis virus, reovirus type 3 and mouse adenovirus. *Jpn J Med Sci Biol* 1982;35:249~254.
5. Cassell GH, Hill A. Murine and other small animal mycoplasmas. In: Barile MF, et al, ed. *The mycoplasmas*, Vol II. London: Academic Press, 1979;253~273.
6. 中川雅郎. 마우스およびテットにおける *Mycoplasma pulmonis*感染의 診斷と疫學에 關する最近의 知見. 實驗動物 1884;33:141~149.
7. Fujiwara K, Takenaka S, Schumiya S. Carrier state of antibody and viruses in a mouse breeding colony persistently infected with Sendai virus and mouse hepatitis virus. *Lab Anim Sci* 1976;26:153-159.
8. Horowitz SA, Cassell GH. Detection of antibodies to *Mycoplasma pulmonis* by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Infect Immun* 1978;22:161~170.
9. Parker JC, O'Berine AJ, Collins MJ. Sensitivity of enzyme-linked immunosorbent assay, complement fixation, and hemagglutination inhibition tests for detection of Sendai virus antibody in laboratory mice. *J Clin Microbiol* 1979;9:444~447.
10. Parker JC, Teunant RW, Ward TG. Prevalence of viruses in mouse colonies. *Natl Cancer Inst*

- Monogr* 1966;20:25~36.
11. Rowe WP, Hartley JW, Capps WI. Mouse hepatitis virus infection as a highly contagious prevalent enteric infection of mice. *Proc Soc Exp Biol Med* 1963;112:161~165.
  12. Voller A, Bidwell D. Enzyme-linked immunosorbent assay. In: Rose NR, et al., ed. *Manual of clinical laboratory immunology*. 3rd ed. Washington DC: *Am Soc Microbiol*, 1986;99~109.
  13. Voller A, Bidwell D. *The enzyme linked immunosorbent assay(ELISA)*. A review of recent development with abstracts of microplate applications. Channel Islands: *Micro Systems Ltd*, 1980;1~126.
  14. Cassell GH, Lindsey, JR, Davidson MK, et al. Detection of natural *Mycoplasma pulmonis* infection in rats and mice by an enzyme linked immunosorbent assay(ELISA). *Lab Anim Sci* 1981;31:676~682.
  15. Matsubara J, Kamiyama T, Saito M, et al. Serodiagnosis of *Mycoplasma pulmonis* infection in mice and rats by enzyme-linked immunosorbent assay. *Exp Anim* 1985;34:49~55.
  16. Peters RI, Collins MJ, O'Beirne AJ, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to murine hepatitis virus. *J Clin Microbiol* 1979;10:595~597.
  17. Chandler HM, Cox JC, Healey K, et al. An investigation of the use of urease-antibody conjugates in enzyme immunoassays. *J Immunol* 1982;53:187~194.
  18. 国立豫防衛生研究所獣疫部実験動物第一室. 実験動物テキスト 9. 実験小動物の病原微生物検査法. 東京:日本実験動物技術者協会, 1984;11~19.
  19. 田淵輝雄, 福田妙子, 興水馨. 繁殖用マウスの衛生的飼育管理の改善による呼吸器病撲滅の試み. *実験動物* 1982;31:159~164.
  20. 野口章, 鈴木映子, 天尾弘實等. ELISA法のセンダイウイルスに対する血清抗体価測定の実用—ラットのHVJ感染診断. 第33回 実験動物学会要 1986; p. 66.
  21. 松原純子, 神山恒夫, 三好哲夫等. 実験動物の微生物統製に関する研究 4, ELISA法によるマウス, ラットの *Mycoplasma pulmonis*, HVJおよびMHV抗体検査の信頼性. 国立豫防衛生研究所年報 1985;29:321.