

환경으로 부터 분리한 canine parvovirus의 실험적 감염 자견에 대한 바이러스학적 연구

최 해 연 · 전 무 형* · 박 성 국*

충북가축위생시험소 북부지소

충남대학교 수의과대학*

(1991. 3. 10. 접수)

Virological studies on the puppies experimentally infected with canine parvovirus isolated in Korea

Hae-yeon Choi, Moo-hyung Jun*, Seong-kuk Park*

Northern Branch of Chungbuk Animal Health Laboratory,

College of Veterinary Medicine, Chungnam National University*

(Received Mar 10, 1991)

Abstract: To investigate the pathogenicity and virological properties of TJ-89-2 strain of canine parvovirus(CPV-2) that was isolated from the diseased puppies in Korea, seven puppies were inoculated intraorally with the isolate at the HA titer of 8,192. All of the puppies showed the signs of anorexia, vomiting, diarrhea and died at the 5th to 10th days post inoculation(pi).

All of the fecal samples from the puppies revealed significantly high HA titers afterward the 5th days pi. Body temperature and the number of total leucocytes were slightly increased at the early stage of infection, but extremely decreased at the stage of collapse. HI titers of the sera began to increase at the 3rd to 4th days pi, reaching 512 to 1,024 at the 4th to 5th days pi.

Key words: Experimentally infected puppies, canine parvovirus, Korean isolates.

서 론

Canine parvovirus(CPV)는 Parvoviridae에 속하는 바이러스로서¹⁻⁷ 크기는 18~22nm이며, single stranded DNA를 가지고 cubic symmetry 형태의 capsid를 가지는 $1.2\sim 1.8\times 10^6$ dalton의 작은 바이러스로서 envelope가 없고 ether나 chloroform에 저항성이 있는 바이러스이다.

CPV는 건강한 개의 분변에서 흔히 분리되며 병원성이 없는 CPV-1과 심한 장염과 심장염을 유발하여 자견에 피해를 주는 CPV-2로 구분된다.^{1,2}

CPV-2는 1978년에 Appel등⁶ 및 Eugster¹⁰에 의해 처음 분리 보고된 이후 세계 각지에서 보고 되었다.^{1,2} 이 바이러스는 CPV-1과 물리화학적 성상은 동일하나

병원성이 다른 것으로 알려져 있으며, 오늘날 CPV-2 감염증에 대한 임상병리학적 연구와 아울러 병인체에 대한 생물학적 특성, 병원학적 기전 및 면역학적 측면에 대한 연구가 활발히 수행되고 있다.^{1,2,5,15}

국내에서는 1982년 한등¹²이 본 병에 대한 임상병리학적 관찰 소견을 보고하였고 아울러 이등¹²은 병인학적 연구를 수행하여 canine parvovirus 감염증을 처음 확인 보고하였다. 그 뒤 최등¹³은 현청역학적 연구를 수행하여 본 증이 전국에 확산되어 발병하고 있고 자견 사육에 막대한 피해를 주는 중요한 전염병이라고 보고하였다. 또한 김 과 유⁷는 설사증 이환견으로부터 CPV를 분리하여 조직배양증식성 및 혈구응집능에 대한 시험 결과를 보고한 바 있었다.

CPV-2 분리주의 병원성상, 바이러스학적 병인기전

및 면역원성을 구명하기 위한 인공감염시험은 Macartney등^{19,22}, Goto등^{23,27} 및 Azetaka등²⁵에 의해 광범위하게 수행된 바 있으며 얻어진 성적들은 분리주와 실험조건에 따라 다양하게 보고된 바 있다. 그러나 국내 환경에서 분리된 CPV-2 주를 실험적으로 감염시킨 자견에 대한 제반 인구가 수행된 바 없으므로 본 병에 대한 임상병리학적, 바이러스학적 및 면역학적 분야에 대한 기초 자료가 부족한 실정이다.

본 고에서는 1988년에서 1989년 사이에 대전 및 충북지역 동물병원에 내원한 임상적으로 파보바이러스성 장염에 이환된 자견의 분변 재료로부터 분리한 CPV-2 를 실험적으로 자견에 접종한 후 병원성상, 바이러스의 분포 및 배설, 혈중 항체가의 변동에 대한 일련의 실험을 수행하여 몇가지 결과를 얻었기에 보고하는 바이다

재료 및 방법

세포 및 바이러스: 바이러스 증식을 위하여 Crandell feline kidney(CRFK) cell을 사용하였다. 세포 배양액은 Eagle's minimum essential medium(Gibco, USA, EMEM)에 우태아혈청(Gibco, USA)을 시험목적에 따라 3~7% 되게 가하고 penicillin(200IU/ml), streptomycin sulfate(200µg/ml), kanamycin(200µg/ml) 및 fungizone(20µg/ml)을 첨가하여 사용하였다.

공시 바이러스로는 대전 지역의 동물병원에서 임상적으로 파보바이러스 감염증으로 진단된 환견으로 부터 분리한 TJ-89-2주¹⁴를 CRFK cell에 2대 계대 증식시켜 사용하였다.

혈구응집시험(hemagglutination test, HA) 및 혈구응집저지시험(hemagglutination inhibition test, HI): 0.7% 돼지 적혈구 부유액과 microplate(Linbo, U bottom, 96well)을 이용하여 Macartney등^{15,16} 및 Carmichael등¹⁷의 방법으로 수행하였다.

자견접종: 임상적으로 건강하며 HI시험에서 항체 음성이며 분변재료에서 HA능이 인정되지 아니한 40~50 일령의 잠종견 10두를 구입하여 케이지에 넣고 시판 자견용 배합사료를 급여하여 사육하였다. 시험자견은 1주일 동안 2회에 걸쳐 구충제를 투여하면서 건강상태를 재 확인한 후 I, II 및 III의 3개 군으로 나누어 다음과 같이 시험하였다.

8,192HA가의 TJ-89-2주를 I군의 4두에 대해서는 2.0ml, II군의 3두에 대해서는 1.0ml씩을 경구 접종하였고, III군의 3두는 대조로서 2.0ml의 Eagle's minimum essential medium을 경구 투여하였다.

간접형광항체시험: Hirasawa등¹⁸ 및 Macartney등^{16,19} 방법을 응용하여 다음과 같이 수행하였다. 조직

및 기관의 동결절편조직을 아세톤에 10분간 고정하고 건조시킨 후 anti-CPV-canine serum을 37°C에서 45분간 반응시킨 다음 PBS로 충분히 세척하고 goat anti-dog IgG FITC conjugate(Sigma : Lot No. 28F8355)로 37°C에서 45분간 감작시키고 PBS로 세척한 후 완충 글리세린으로 봉입하여 형광 현미경으로 경검하였다.²⁰

임상병리학적 검사: CPV 접종 자견에 대해 통상적인 방법^{21,22}에 준하여 임상증상 관찰 및 총 백혈구수 측정시험을 수행하였으며 폐사견에 대해서는 병리학적 부검을 실시하였다.

결 과

임상병리학적 관찰: HA역가 8,192의 TJ-89-2주를 2.0ml씩 경구접종한 I군(4두), 1.0ml씩 경구접종한 II군(3두)과 대조군인 III군(3두)에 대해 임상증세를 관찰한 바 I군과 II군은 접종 후 2일 부터 모든 자견에서 공히 식욕부진과 설사증이 나타났으며 (Table 1), 시간이 경과함에 따라 수양성 설사, 탈수 및 운동실조의 주요 증상이 보였으며, II군의 7번 견에서는 구토 소견이 있었고 혈액성 설사는 5번 견의 한 예에서 볼 수 있었다. 대조군 3두를 제외한 TJ-89-2주 접종견 7두 모두 심한 탈수 증상과 빈사 소견을 보이면서 접종 후 5일에서 10일 사이에 폐사하였다(Table 1).

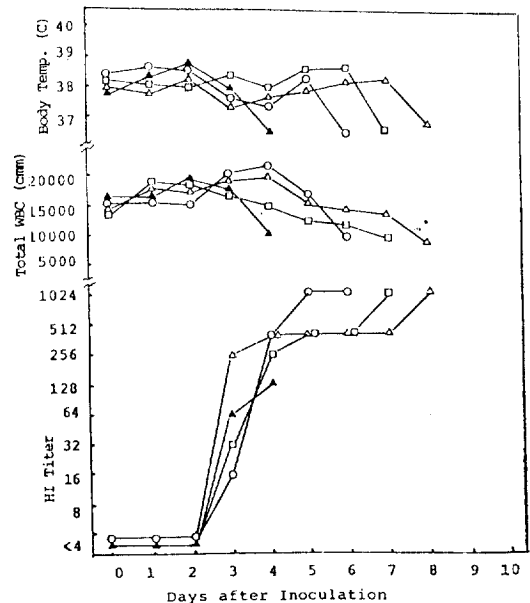


Fig. 1. Clinicopathological and serological responses of four puppies in group I experimentally infected with 2.0ml of canine parvovirus isolates, TJ-89-2 with HA titer of 8,192.

Table 1. Major clinical signs of the puppies experimentally infected with canine parvovirus isolates, TJ-89-2

Groups	No. of dogs	Dosage of virus inoculated*	Clinical signs	Days after inoculation										
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
I	1	2.0ml	D	-	+	+	⊕	⊕	⊕					
			A	-	-	-	-	+	+	D				
			V	-	-	-	-	-	-					
	2	2.0ml	D	-	-	-	-	⊕	⊕	⊕				
			A	-	-	-	-	-	-	+	D			
			V	+	+	+	+	+	+	+				
	3	2.0ml	D	-	-	-	-	+	+	⊕	⊕			
			A	-	-	-	-	-	-	-	+	D		
			V	-	-	-	-	-	-	-	-			
	4	2.0ml	D	-	+	+	+							
			A	-	-	-	-	D						
			V	-	-	-	-							
II	5	1.0ml	D	-	+	⊕**	⊕**	⊕**	⊕**					
			A	-	-	-	+	+	+	D				
			V	-	-	-	-	-	-					
	6	1.0ml	D	-	+	+	+	+						
			A	-	-	-	-	+	D					
			V	-	-	-	-	-						
	7	1.0ml	D	-	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕		
			A	-	+	+	+	+	+	+	+	+	D	
			V	-	-	-	-	-	-	-	+	+		
	III (Control)	8	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
				V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9		-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
10	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
			V	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

* HA titer of virus=8,192, D=diarrhea, A=anorexia, V=vomiting.

⊕ : Diarrhea and dehydration, **Hemorrhagic diarrhea.
D=died.

체온은 I 군 및 II 군 품히 마이디스 접종 후 2일 내지 3일 사이에 약간 상승하여 $38.4 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 였고 빈사기에는 급격히 하강하였으며 총 백혈구수는 접종 후 2일 내지 4일 간에는 다소 증가 추세를 보이다가 빈사기에는 감소하였다(Fig 1, Fig 2).

폐사건의 부검소견에서는 공장과 회장에 출혈성 장염이 인정되었고, 그외 다 장기 및 조직에서는 특이한 병변이 관찰되지 않았다. 또한 특이병변이 있는 조직을 동결절편하여 간접 형광항체법으로 검사한 마 소장의 점막상피세포내에서 CPV의 특이 형광이 관찰되었다.

Table 2. Hemagglutinating activity of the feces of the puppies experimentally infected with the canine parvovirus isolates, TJ-89-2

Groups	No. of dogs	Dosage of virus inoculated	Days after inoculation											
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
I	1	2.0ml	<2*	<2	<2	<2	256	4,096	D					
	2	2.0ml	<2	<2	<2	<2	32	4,096	8,192	D				
	3	2.0ml	<2	<2	<2	<2	<2	256	4,096	4,096	D			
	4	2.0ml	<2	<2	<2	64	D							
II	5	1.0ml	<2	16	16	256	65,536	65,536	D					
	6	1.0ml	<2	<2	<2	32	1,028	D						
	7	1.0ml	<2	<2	<2	<2	<2	<2	16	2,048	16,384	D		
III (Control)	8	—	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
	9	—	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
	10	—	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2

* The numbers represent HA titers with 0.7% porcine erythrocyte. D=died

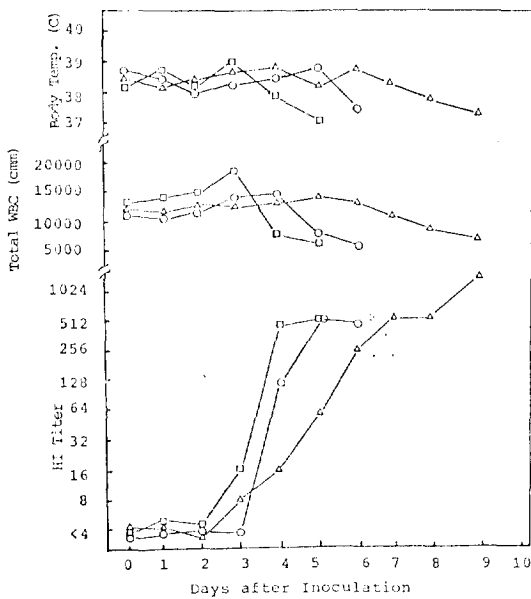


Fig. 2. Clinicopathological and serological responses of three puppies in group II experimentally infected with 1.0ml of canine parvovirus isolates, TJ-89-2, with HA titer of 8,192.

분변 중 바이러스역가 : 분리주 TJ-89-2를 시험접종한 자견의 분변내 CPV배설 상태를 검사하기 위해 분변의 HA가를 시험한 바 I군에서는 4일 부터 HA가 인정되어 6일 내지 7일 사이에 최고치에 달하였으며 2번 견은 8,192로 가장 높았다. II군에서는 2일 부

터 분변에 HA능이 인정되기 시작하여 최고 65,536에 모든 접종견은 폐사직전 분변에서 가장 높은 HA가 달하였으며 인정되었다. 대조군의 분변에서는 전 시험기간 중 HA능이 관찰되지 않았다. 접종 자견 분변의 HA능은 개체에 따라 차이가 있었다. 즉 I군의 4번 자견은 낮은 64의 HA가를 보인 후 폐사한 반면 II군의 5번 견은 65,536의 HA가를 보인 후 폐사하였다 (Table 2).

혈청 중 HI항체가 : 분리주 TJ-89-2의 실험접종군 I 및 II의 항체형성 수준을 HI 시험으로 검사한 바, I군은 접종 후 3일에 급증하여 16 내지 256이었고, 이어서 5 내지 6일에 최고치에 달하여 512내지 1,024였다 (Fig 1). 반면에 II군은 접종 후 3일 내지 4일 사이에 급증하여 4일에는 16 내지 512였고, 6일 이후에는 512 내지 1,024에 도달하였다 (Fig 2).

고 찰

우리 나라에서 canine parvovirus(CPV)성 장염은 자견에서 피해가 큰 중요한 전염병으로 간주되고 있다.^{7,11,12,13} 그러나 임상적으로 CPV 감염증으로 진단되고 있는 장염의 거의 반은 개디스탬퍼, 로타바이러스 및 장내세균 등의 감염이거나 이들의 복합감염에 기인된 경우가 많다.^{1,14} 그러므로 본 시험에서는 국내 분리 CPV-2의 병원학적 특성과 병인기전을 구명하기 위한 기초자료를 얻기 위해 인공 접종시험을 수행하였다.

Goto등²³은 일본에서 분리한 10^{6.0}TCID₅₀/ml역가의

CPV-2를 1ml 접종한 마 8두 중 1두 (12.5%)가 폐사하였고, Macartney등²²은 영국에서 분리한 1.3×10^5 HA 역가의 CPV-2 2ml를 시험감염 시킨 14두의 자견 중 3두 (21.4%)가 폐사하였다고 보고한 바 있었다. 이와 같은 자견 접종시험 결과는 CPV의 병원성 뿐만 아니라 접종한 바이러스 량, 접종자견의 품종, 연령 및 면역상태, 그리고 사육 환경과도 밀접한 연관성이 있어서 시험 결과를 직접 비교하기는 곤란한 점이 있다. 그러나 본 시험에서 8,192HA 역가의 국내 분리 CPV-2주 (TJ-89-2)를 1ml 내지 2ml 접종한 결과 심한 장염 소견을 보이면서 전 두수가 폐사하였다는 결과는 국내 분리 CPV-2의 병원성이 대단히 높다는 사실을 입증한 것으로 사료된다.

분변 중 바이러스 역가의 개체 차이는 Macartney 등^{15,19} 및 Carmichael등¹⁷ 이 보고한 바는 있으나 그 기준에 대해서는 아직 불명하다. 그러나 대개 급성 폐사 예에서는 분변의 HA가가 낮고 다소 지속적이며 증세가 심한 예에서는 분변의 HA가가 높게 나타났다. 또한 폐사한 2필 자견의 부위별 장 내용물에 대한 혈구 응집능을 검사하였던 마 회장과 맹장에서 8,192, 결장에서 2,048 그리고 직장에서 8,192의 HA역가를 보여서 장 내용물과 분변의 HA역가는 비슷한 수준이었다. 이와 같은 결과는 형광항체법에 의해 소장 점막 상피내에서 특히 CPV 항원이 증명된 사실과 함께 CPV 감염증의 병인기전을 밝히는데 매우 중요한 사실로 간주되었다.

원침 중 HI 항체가 형성은 2.0ml의 CPV를 접종한 I군이 1.0ml의 CPV를 접종한 II군보다 빠른 경향을 보였다. Carman과 Povey²⁴는 접종 후 3일에 급증하여 8 내지 12이었고 8 내지 9일에 1,536 내지 3,072에 도달하였다고 보고하였고, Azetaka등²⁵은 접종 후 5일보다 급증하여 5일에 722에 도달한다고 보고한 바 있어서 본 시험에서 얻어진 항체형성 및 최고 항체 도달시기와 비슷하였다. 그리고 급성 폐사 예에서는 HI가가 낮은 반면에 다소 지속적인 증세를 나타내는 예에서는 HI가가 높게 나타난다는 결과는 서로 일치하였다.

감염 자견의 체온과 총 백혈구수는 개체별로 변화가 심하여 비교가 곤란하였으나 일반적인 성적으로 볼 때 Carman과 Povey²⁴ 및 Azetaka등²⁵은 바이러스 접종 후 체온이 초기에 상승하나 접종 5일 이후에 하강된다고 보고한 바 있어서 이와 같은 성적은 본 시험에서 얻어진 체온상승 및 하강의 시기와 비슷 하였다. 그리고 Carman과 Povey²⁴는 총 백혈구수가 바이러스 접종 후 증가하다가 접종 5일 후 급격히 감소한다고 보고한 바 있어 본 시험 성적과 유사한 경향치를 보였다. 그

러나 Azetaka등²⁵은 바이러스 접종 후 총 백혈구수가 계속 감소하다가 접종 5일 이후에 증가한다고 보고하여 상이한 결과를 보였으나 이는 CPV 감염에 따른 장 점막상피세포의 탈락과 2차 세균감염에 의한 장염 발생으로 백혈구 수가 증가한 것으로 사료되었다.

일련의 시험결과를 종합해 볼 때 국내 분의 CPV-2주는 면역되지 않은 자견에서는 치명적인 장염을 유발하는 병원독주임이 확인되었고, 본 병의 피해를 줄이기 위해서 성견과 자견에 수동 및 능동적 면역을 부여해야 할 것으로 사료된다. 또한 CPV-2의 병인기전을 약의여전에서 보다 깊이 구명하기 위해 모체 이행항체 수준에 따른 병원성상에 대한 추가시험이 요망된다.

결 론

국내에서 분리한 canine parvovirus(CPV), TJ-89-2주의 자견에 대한 병인학적 특성을 구명하기 위하여 분리주를 40~50일령된 자견에 구강으로 인공 감염 시킨 후 임상 병리학적 및 바이러스학적 측면에 대한 일련의 실험을 수행하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

가. 8,192 HA역가를 가진 CPV TJ-89-2를 7두의 자견에 실험 접종한 마 접종 자견은 식욕부진, 구토 및 설사 증세를 보였으며 접종 후 5~10일에 모두 폐사하였다.

나. 접종 자견의 체온과 총 백혈구수는 감염초기에 일시적으로 증가하였다가 빈사기에 급격히 떨어졌다.

다. 폐사건의 부검에서는 공장과 회장에서 출혈성 장염이 관찰되었고, 형광항체시험에 의해 소장점막상피세포에서 특히 CPV항원이 관찰되었다.

라. 접종 자견의 설사분변에서 접종후 5일 부터 배지적혈구에 대한 높은 HA역가가 인정되었고 폐사적전에 가장 높아 65,536에 달하였다.

마. 접종 자견 원침의 HI역가는 접종 후 3~4일 부터 증가하기 시작하여 4~5일에는 512~1,024에 달하였다.

참 고 문 헌

1. Gillespie JH, Timoney JF. The parvovirus, In: Timoney JF, Gillespie JH et al, ed. Hagan and Brunner's infectious disease of domestic animals. 8th ed. Comstock Pub Ass, Ithaca and London, 1988;511~514.
2. Buxton A, Fraser A, Fraser G, Parvovirus, In: Buxton A, Fraser G, ed. Animal microbiology. Blackwell Sci Pub Ltd, Oxford, London, 1977; 711~716.

3. Cotomore SF, Tattersall P. The autonomously replicating parvovirus of vertebrates. *Yale Univ Lab*, 1985;91~97.
4. McCandlish IAP, Thompson H, Fisher EW et al. Canine parvovirus infection. *Am J Small Animal Clinic*, 1981;5~15.
5. Parrish CR, Leathers CW, Pearson R, Gorham JR. Comparisons of feline panleukopenia virus, canine parvovirus, raccoon parvovirus, and mink enteritis virus and their pathogenicity for mink and ferrets. *Am J Vet Res*, 1987;48(10):1429~1435.
6. Kenneth IB, Mark AL. Parvovirus gene regulation. *Cornell Vet*, Corn Vet Med Coll, 1987; 68:601~614.
7. 김태중, 류영수. 개 파보바이러스의 조직배양 증식성 및 혈구응집능에 관한 연구, 건국대학교 축산과학 연구소 논문집. 1988;13:1~7.
8. Binn LN, Lozar EC, Eddy GA et al. Recovery and characterization of a minute virus of canine. *Inf & Imm*, 1970;1:503~509.
9. Appel MJG, Scott FW, Carmichael LE. Isolation and immunization studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *Am J Vet Res*, 1979;42(5):1665~1667.
10. Eugster AK. Studies on canine parvovirus infection; Development of an inactivated vaccine. *Am J Vet Res*, 1980;41(12):2020~2024.
11. 한홍률, 황의경, 유규인 등. 개의 마이러스성 장염의 국내 발생 보고. 대한수의학회지, 1982;22(2).
12. 이영옥, 최대영, 박봉균 등. 개 파보바이러스성 장염의 국내 발생. 대한수의학회지, 1982;22(2): 171~174.
13. 최대영, 류영수, 권창희 등. 개의 파보바이러스성 감염증의 발생과 항체 분포를 조사. 농진청 농사 시험연구논문집, 1986;28(2):193~199.
14. 최해연, 전무형, 박성국. 설사증 이환견으로부터 분리한 Canine parvovirus의 성상에 관한 연구. 대한수의학회지. 1991;31(3):295~302.
15. Macartney L., Thompson H, McCandlish IAP et al. Canine parvovirus; Interaction between passive immunity and virulent challenge. *Vet Rec*, 1988;122:573~576.
16. Macartney L, Macartney CM. Canine parvovirus; Development of immunofluorescence and immunoperoxidase techniques. *Res Vet Sci*, 1986;40: 201~208.
17. Carmichael LE, Joubert JC, Pollok RVH. Haemagglutination by canine parvovirus: Serologic studies and diagnostic application. *Am J Vet Res*, 1980;41(5):784~791.
18. Hirasawa T, Tsujimura N, Konishi SI. Multiplication of canine parvovirus in CRFK cells. *Jpn J Vet Sci*, 1985;47(1):89~99.
19. Macartney L, McCandlish IAP, Thompson H, et al. Canine parvovirus enteritis 2; pathogenesis. *Vet Rec*, 1984;115:453-460.
20. Paradiso PR, Rhode SL, Singer I. Canine parvovirus; A biochemical and ultrastructural characterization. *J Gen Virol*, 1982;62:113-125.
21. Hayes MA, Russel RG, Babiuk LA. Sudden death in young dogs with myocarditis caused by parvovirus. *Am J Vet Met*, 1979;174(11):1197-1203.
22. Macartney L, McCandlish IAP, Thompson H, et al. Canine parvovirus enteritis 1: Clinical haematopathological and pathological features of experimental infection. *Vet Rec*, 1984;115:201~210.
23. Goto H, Hirano T, Uchida E, et al. Comparative studies of physicochemical and biological properties between canine parvovirus and feline panleukopenia virus. *Jpn J Vet Sci*, 1984;46(4): 519~526.
24. Carman PS, Povey RC. Pathogenesis of canine parvovirus 2 in dogs; Histopathology and antigen identification in tissues. *Res Vet Sci*, 1985;38: 141~150.
25. Azetaka M, Hirasawa T, Konishi SI, et al. Studies on canine parvovirus; isolation, experimental infection and serologic survey. *Jpn Vet Sci*, 1981;43:243~255.
26. Hsiung GD. Diagnostic virology, 3rd ed, Yale Univ Press, USA, 1982;77-86.
27. Goto H, Hosokawa S, Ichijo K, et al. Experimental infection of feline panleukopenia virus in specific pathogen-free cats. *Jpn J Vet Sci*, 1983;45(1):109~112.
25. Azetaka M, Hirasawa T, Konishi SI, et al. Studies on canine parvovirus; isolation, experi-

- mental infection and serologic survey. *Jpn Vet Sci*, 1981; 43: 243-255.
26. Hsiung GD. Diagnostic virology, 3rd ed, Yale Univ Press, USA, 1982; 77-86.
27. Goto H, Hosokawa S, Ichijo K, et al. Experimental infection of feline panleukopenia virus in specific pathogen free cats. *Jpn J Vet Sci*, 1983; 45(1); 109-112.