

ELISA를 이용한 돼지 옴 (*Sarcoptes scabiei* var. *swis*) 감염증의 진단

지차호* · 이삼선 · 장래훈

충북대학교 수의과대학 수의기생충학교실
(2001년 11월 28일 게재승인)

Diagnosis of swine sarcoptic mange(*Sarcoptes scabiei* var. *swis*) by ELISA

Cha-Ho Jee, Sam-sun Lee, Lai-hun Chang

Lab of veterinary parasitology, College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Chungju 361-763, Korea
(Accepted November 28, 2001)

Abstract : The diagnosis of swine sarcoptic mange (*Sarcoptes scabiei* var. *swis*) was investigated by ELISA in order to replace current diagnostic methods such as skin scraping, scratching index, or lesion score of dermatitis. The current methods need many efforts and much times and cost much. They can not handle many samples simultaneously. Therefore, in this research we developed ELISA that can handle many samples at a time. The antigens of swine sarcoptic mite were isolated and examined by 12.5% SDS-PAGE and silver staining. The antigenicity of antigen was confirmed by Western blotting using the swine from the artificially-infested swine with swine sarcoptic mite. The optical density (OD) values of the artificially-infested positive sera and the naturally-infested positive sera of sows were measured and read in order to confirm the stability of antigens, the reproducibility and validity (sensitivity and specificity) of the manufactured ELISA of swine sarcoptic antigens.

In above results, the developed ELISA would be possible to use the diagnostic tool of sarcoptic mange if OD values of piglets, fattening pigs and sows are interpreted reasonably and classified as mange-free and infested.

Key words : ELISA kit, swine sarcoptic mange (*Sarcoptes scabiei* var. *swis*), sensitivity and specificity of ELISA, mange-free pig farm

서 론

돼지 옴 (*Sarcoptes scabiei* var. *swis*)의 중요성은 국내, 외에 잘 알려져 있지만 돼지 옴에 의한 생산성저하와 경제적 피해에 대한 정확한 국내자료는 없고 외국자료에 의하면 돼지 옴에 감염된 모든 한 마리는 1년에 \$84 ~ 115의 경제적 손실을 끼치고 자돈에서 육성돈으로 성장하는 112일 동안 돼지 옴에 의한 증체를 감소는 5.5 ~ 12.5%²이며, 옴에 감염된 육성돈은 감염되지 않은 육성돈에 비하여 1일 증체

량이 41g 감소되며 사료효율은 2% 감소된다³는 구체적이고 현실적인 자료가 보고되었으며 모든이 옴에 감염되어 포유 중에 굵기 위하여 일어났다가 누울 때 동복 자돈에서 이유 전까지 폐사되는 자돈의 수는 0.1 ~ 2.1두이고, 출하일수도 10 ~ 15일이 지연된다⁴는 보고문헌이 있다.

국내에서도 돼지 옴의 중요성이 인정되어 “종돈장 위생 관리요령 및 위생·방역관리 우수종돈장 인증요령”¹⁸에서 돼지 옴이 7가지 검사대상질병(돼지오제스키병, 위축성비염, 부루세라병, 적리, 특소플라스마병, 유행성폐렴, 돼지 옴)에

본 연구는 2000년도 과학재단 목격기초연구비(2000-1-22200-001-2)지원으로 수행되었음

*Corresponding author : Dr. Cha-ho Jee, College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Chungju 361-763, Republic of Korea

포함되어 있다. 우수종돈장 1등급은 7가지 질병이 발생하지 않은 농장이고 2등급은 5종 이상 발생하지 않은 농장이라고 고시하고 있다. 현행 “우수종돈장 인증요령”에서 실시하는 돼지 음 진단법은 도축한 10두의 귀주변이나 감염 의심 부위에서 채취한 피부각질 가검물을 현미경으로 검사하여 음이 발견되지 않으면 음성으로서 합격이다. 피부에서 1회 채취한 가검물(2-3ml)을 검사하여도 10장 이상의 슬라이드에 나누어 검경해야 하고 현미경하에서 검사할 경우 시야가 너무도 많아 노력과 시간이 많이 소요되며, 우수종돈장 인증을 신청할 때마다 종돈 10두 이상을 도축해야하는 단점과 일선 시, 도 위생시험소에서는 고유 연구 및 조사업무 외에 피부채취 (skin scrapings)에 의한 음 진단법은 많은 수의 가검물을 처리해야 하기 때문에 업무가 가중되며 오진 위험성이 높은 방법이다.

최근 국외에서는 돼지 음 감염증의 혈청학적 진단⁵, 돼지 음의 혈청학적 진단을 위한 ELISA기법 도입⁶, 일반 돼지농장에서 실시하는 돼지 음 근절대책에 대한 효능평가⁷, 등에서 효소 면역 흡착법 (ELISA)이 사용되고 있다. 이와 같이 ELISA기법이 사용되는 근거는 ELISA의 감수성 (sensitivity)과 특이성 (specificity)이 높고 기존의 음 진단법, 즉 피부채취 (skin scraping), 긁고 문지르는 핏수 (scratching and rubbing index), 피부병변 지수 (dermatitis score) 등을 이용한 진단법보다 정확하고 편리하며 많은 가검물을 한번에 처리할 수 있기 때문에 매우 유용한 검사법으로 인정되고 있는 실정이다.

본 연구에서는 “위생·방역관리 우수종돈장 인증요령”¹⁸에서의 현행 돼지 음 검사법인 “도축 병변의 피부채취 (skin scraping)법”을 혈청학적 진단법으로 개선하기 위하여 ELISA기법을 돼지 음 진단에 도입하려는 시도이다. 돼지 음 감염증을 진단할 수 있는 기존의 진단법 (피부채취, 긁는 핏수 (rubbing and scratching index), 도축시 피부병변 지수 (dermatitis score 등)들은 많은 학자들에 의하여 개발되었고 현재까지 사용되고 있지만 노력과 시간이 많이 소요되고 한번에 많은 가검물을 처리할 없으며 또한 다른 질병과 연관성 연구에 한계가 있는 진단법이다. 그러므로 본 연구에서 한번에 많은 가검물처리가 가능하고 타 질병과의 연관성을 연구할 수 있는 ELISA기법을 이용하여 돼지 음 감염증의 진단을 시도하였으며 1차적으로 제작한 돼지 음 진단 키트 (ELISA)의 성능과 성적을 보고하는 바이다.

재료 및 방법

돼지 음 및 혈청 수집 : 돼지 음의 분리는 충북도내 도축장에서 도축하는 돼지 중에서 귀에 딱지가 형성된 돼지의 피부를 긁어 돼지 음을 분리·회수하였다. 회수한 음은 증류수로 5회 세척하였으며, 혈청은 돼지 음을 인공 감염시

킨 돼지에서 감염 전·후에 경정맥에서 혈액을 채취한 후 1,000g에서 5분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다.

SDS-PAGE and silver stain : 분리한 돼지 음을 분쇄한 후 탈지방화(defatted)하기 위하여 시료에 동량의 chloroform을 가하여 잘 흔든 후 10,000g에서 15분간 원심 분리하여 얻어진 상층액을 항원으로 회수하여 항원의 단백질 농도를 Lowry 법으로 측정하였다. SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)에 사용된 겔은 12.5% 이었으며 Ready gel cell (Bio-Rad)에서 Blackshear법⁸에 의하여 전기영동한 후 Merrill 등⁹의 방법에 준하여 silver stain을 실시하였다.

Western blot : 돼지 음 체항원의 항원성을 확인하기 위하여 western blot하였으며 Gershoni 등¹⁰의 방법에 준하여 다음과 같이 실시하였다. 앞에서 전기 영동한 gel과 filter paper, pure nitrocellulose membrane (0.2 μ m)을 transfer buffer에 15분 동안 담가 equilibration시킨다. 평형화 후 Trans-blot SD transfer cell (Bio-Rad)에 아래부터 filter paper→membrane→gel→filter paper 순으로 공기방울이 생기지 않도록 배열한 후 13 volt로 20분간 겔의 항원을 transfer시켰다. 그 후 membrane은 5% 탈지분유 (non-fat dry milk)용액에 담가 2시간 동안 blocking시킨 후 TBS (Tris-buffered saline)로 5분씩 3회 세척과정을 거치고 음 양성혈청과 음 음성혈청을 각각 1:100으로 희석해서 실온에서 1시간 동안 반응시킨다. 반응이 끝나면 TBS로 5분씩 3회 세척 후 효소표지 항체 (2차 항체, alkaline phosphatase-conjugated rabbit anti-pig IgG)를 TBS로 1 : 2000희석하여 실온에서 1시간동안 반응시킨다. TBS로 5분씩 3회 세척 후 NBT (Nitro blue tetrazolium chloride)/BCIP (5-Bromo-4-chloro-3-indolylphosphate)(SIGMA)를 증류수에 첨가하여 반응시켜 발색이 되면 반응을 멈추었다.

효소면역흡착법 (ELISA) : 돼지 음 체항원은 도포 완충액 (carbonate-bicarbonate buffer, pH 9.6)으로 1 μ g/ml로 희석하여 ELISA용 microplate의 각 well당 100 μ l씩 분주한 후 37°C 배양기에서 1시간 반응시킨 후 4°C에서 18시간 반응시키고 인산완충액 (phosphate buffer saline (PBS)-Tween20, pH 7.4 washing buffer)에 5분간 3회 세척하였다. Blocking은 5% 탈지분유 (non-fat dry milk)가 함유된 PBS-Tween20을 항원흡착 plate의 각 well당 100 μ l씩 분주한 후 37°C 배양기에서 2시간동안 반응시키고 PBS-Tween20으로 5분간씩 3회 세척하였다. 혈청 희석배수는 예비실험을 통해 ELISA OD 값이 가장 효율적으로 반응하는 100배로 PBS-Tween20과 희석하여 각 well당 100 μ l씩 분주하고 37°C 배양기에 1시간 반응시킨 후 PBS-Tween20으로 5분간 3회 세척하였다. 효소

표지 항체 (2차항체, alkaline phosphatase conjugated rabbit anti-swine IgG)를 PBS-Tween20로 2,000배 희석하여 각 well 당 100 μ l씩 분주하고 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 1시간 반응 후 PBS-Tween20에 5분간씩 3회 세척하였다. 기질은 p -nitrophenyl phosphate와 10mM diethanolamine이 함유된 alkaline phosphate-nitrophenyl phosphate (PNPP)를 각 well당 100 μ l씩 분주한 후 빛을 차단시켜 실온에서 20분 간격으로 20분, 40분, 60분째 ELISA reader를 사용하여 405nm에서 OD값을 측정 한 후 결과가 가장 좋은 40분째의 OD값을 사용하였다.

효소면역흡착법 (ELISA)의 시험측정 : ELISA의 재현성, 반복성과 유효성(validity)을 시험 측정할 목적으로 인공 감염시킨 돼지 5두의 혈청을 감염전과 후의 기간별로 구분하여 405nm에서 40분 후 ELISA reader 측정하였으며, 또한 농장에서 돼지 음에 자연 감염된 후보돈 (13개월령)과 비감염 돼지 (8개월령)의 경정맥에서 얻은 혈청을, 인공 감염시킨 돼지 5두의 감염전 혈청과 감염 6개월 후의 혈청을 표 준혈청으로, ELISA로 함께 측정하여 비교 분석하였다.

결 과

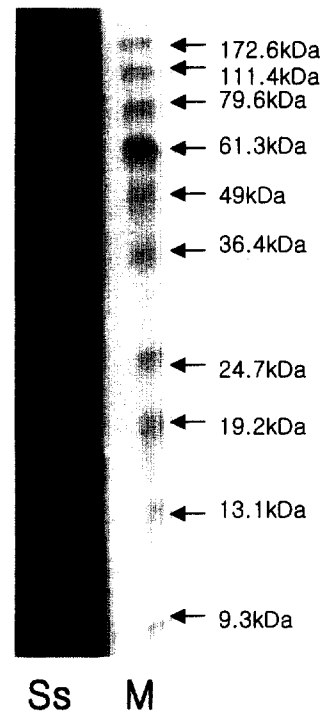
SDS-PAGE and silver stain : 12.5% PAGE gel을 이용하여 전기영동 한 후 silver stain에 의하여 관찰한 돼지 음의 체항원 분획은 그림 1에서 보는 바와 같이 11~150 kDa에 걸쳐 넓게 분포함을 확인하였다 (Fig 1). 항원의 분획은 분자량이 큰 순서로 150, 79.6, 66, 58, 49, 47, 34, 30, 27, 22, 20, 19, 18, 12.5, 11 kDa 등의 15 분획이 관찰되었다 (Fig 1).

Western blot

돼지 음을 인공 감염시킨 돼지 5두에서 감염전의 혈청을 음성, 감염 후 5개월 혈청을 양성혈청으로 돼지 음 체항원에 대하여 항원성을 확인하기 위하여 Western blot을 실시한 결과, 음성혈청에서 47, 20 kDa 등 2개의 분획이 관찰되었고 양성혈청에서 150, 58, 47, 34, 22, 20 kDa 등 6개의 분획이 관찰되었으며 음성, 양성 혈청에서 공통으로 반응한 분획은 47, 20 kDa 등의 분획으로 음성혈청에서 나타난 분획과 같았다 (Fig 2).

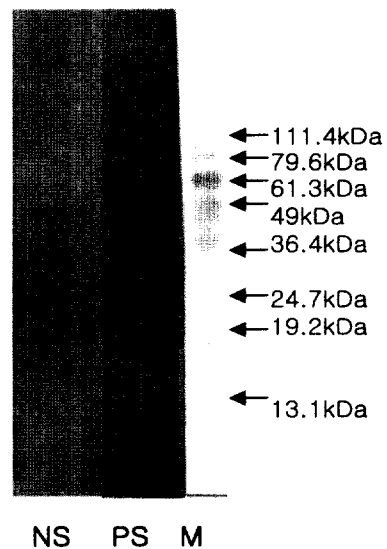
효소면역흡착법 (ELISA)의 시험측정

돼지 음 체항원에 대하여 양성혈청에서 면역성을 나타내는 6개 분획이 관찰되었고 제작한 ELISA의 재현성, 반복성과 유효성을 시험 측정할 목적으로 인공 감염시킨 돼지 5두의 혈청을 감염전과 후의 기간별로 구분하여 405nm에서 40분 후 ELISA reader 측정 한 결과는 표 1과 같다 (Table 1).



Ss : *Sarcoptes scabiei* var. *suis* M : Marker

Fig 1. 15 fractions of *S. scabiei* var. *suis* antigen by 12.5% SDS-PAGE with silver staining



NS ; Negative serum(Pre-infestation)
PS ; Positive serum(5 months post-infested)
M ; Marker

Fig 2. Western blotting of *Sarcoptes scabiei* antigens with positive and negative serum of the artificially infested pigs

Table 1. OD values(%OD) of antibodies to the antigens of *Sarcoptes scabiei* var. *suis* in sera collected from post-infested pigs(OD : 405nm, 40 min.)

Period Pigs No.	Pre-infestation 0 month	infestation after 2 months	infestation after 3 months	infestation after 4 months	infestation after 5 months	infestation after 6 months	infestation after 7 months
1	0.306	0.523	0.647	0.694	0.668	0.663	0.693
2	0.249	0.559	0.732	0.713	0.743	0.774	0.803
3	0.258	0.529	0.649	0.662	0.758	0.733	0.829
4	0.278	0.520	0.684	0.710	0.823	0.809	0.843
5	0.247	0.553	0.681	0.677	0.799	0.821	0.798
Mean ± SD	0.268 ± 0.025	0.537 ± 0.018	0.699 ± 0.058	0.691 ± 0.022	0.758 ± 0.060	0.760 ± 0.064	0.793 ± 0.059
% OD*	-	50.1%	61.7%	61.2%	64.6%	64.7%	66.2%

* % OD = $\frac{\text{positive OD} - \text{negative OD}}{\text{positive OD}} \times 100$

negative : below 50% OD
doubtful : 50~60% OD
positive : above 60% OD

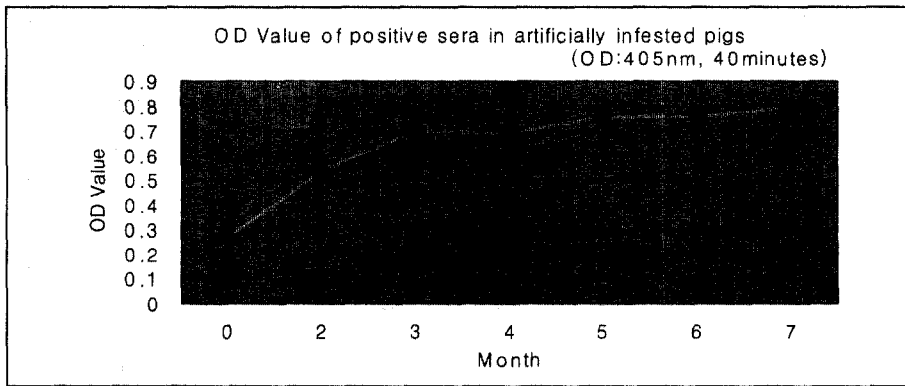


Fig 3 OD values of antibodies to the antigens of *Sarcoptes scabiei* var. *suis* in sera collected from post-infested pigs

Table 2. Comparative OD values of sera collected from the 0, 6 months post-infested, non-infested pigs and naturally-infested gilts (OD:405nm, 40 min.)

No. of pigs Items	1	2	3	4	5	Mean ± SD
0 month after infestation (2 month old)	0.398	0.342	0.357	0.502	0.344	0.389 ± 0.067
6 months after infestation (8 month old)	0.638	0.663	0.637	0.783	0.747	0.694 ± 0.067
Non-infested pigs (8 month old)	0.345	0.356	0.387	0.343	0.354	0.357 ± 0.018
Naturally-infested gilts (13 month old)	0.648	0.615	0.627	0.549	0.533	0.594 ± 0.050

돼지 음을 인공 감염시킨 후 2, 3개월의 혈청에서 각 OD 값이 감염 전 평균 OD값 0.268보다 0.537, 0.699로서 급격히 증가되었지만 % OD에 의한 양성판정은 인공감염 후 2개월에는 위양성이고 3개월 후부터 양성으로 나타나기 시작하여 감염 후 4, 5, 6, 7개월에는 감염초기보다 OD값이 완만한 증가를 보였지만 모두 양성으로 판정되었으며 또한 표1에서 보는 바와 같이 음 감염이 진행될수록 OD값이 증가하고 인공감염 전과 후의 OD값으로서 양성과 음성의 구별이 가능하였다 (Table 1, Fig 3).

제작한 ELISA의 시험 측정용을 위해 돼지음을 인공감염 전의 혈청 (2개월령)과 감염 6개월후의 혈청 (8개월령)을 표준 혈청으로 돼지음에 감염되지 않은 혈청 (8개월령)과 자연 감염된 후보돈 (13개월령)의 혈청을 제작한 ELISA로 측정 비교한 결과는 표2와 같다 (Table 2).

표2에서 보는바와 같이 인공감염 8개월령 혈청 (0.694 ±

0.067)과 자연 감염된 후보돈 (13개월령)의 혈청 (0.594 ± 0.050)에서 양성 흡광도 값 (positive OD values)은, 인공감염 전 2개월령 혈청 (0.389 ± 0.067)과 감염되지 않은 8개월령 혈청 (0.357 ± 0.018)에서 음성 흡광도 값 (negative OD values)과 비교적 큰 차이가 나타나므로 효소면역흡착법을 이용한 양성, 음성 흡광도 값으로 돼지 음 감염증에 대한 양, 음성을 진단할 수 있었다.

고 찰

돼지 음에 의한 구체적인 피해 및 손실이 알려지면서 국내에서도 돼지 음에 대한 중요성이 인정되어 “중돈장 위생 관리요령 및 위생·방역관리 우수중돈장 인증요령”¹⁸에 돼지 음이 7가지 검사대상전염병 (돼지오세스키병, 위축성비염, 부루세라병, 적리, 톡소플라스마병, 유행성폐렴, 돼지 음)에 포함되어 있으며 최근 외국에서도 돼지 음에 대한 중요성이 부각되면서 음의 진단^{5,6,12}이나 치료효과 판정⁷ 등에 돼지 음의 ELISA기법의 필요성이 대두되어 많은 학자들에 의하여 연구되고 있다. 특히 경산돈의 만성 음 감염증은 준임상형 (subclinical)으로서 피부채취에 의한 음 확인은 거의 불가능하고 이유자돈이나 육성돈에 대한 음 감염진단이나 치료효과 판정은 매우 많은 가검물을 한번에 처리해야하기 때문에 ELISA기법에 의한 항체검출로 판정하는 추세이다.

돼지 음은 피부 각질층 (stratum corneum)에 거주하면서 세포간 액 (intracellular fluids)을 먹고 혈액은 먹지 않는다. 그럼에도 불구하고 면역글로브린은 형질세포나 모세혈관상 (capillary beds)에서 확산에 의하여 돼지 음에게 도달¹³하기 에 돼지 음의 조항원 (crude antigens)에는 돼지 면역글로브린 (immunoglobulins)이 함유되어 있기 때문에 ELISA에서 비특이성 배경 (nonspecific background) 반응으로 OD값이 일반적으로 높은 경향이 있다¹⁴.

돼지 음의 항원은 전기영동 (SDS-PAGE)이나 Western blot에 의하여 분자량 크기나 분획 수로 관찰할 수 있다. 본 실험에서도 전기 영동 및 silver stain으로 항원분획의 분자량 크기는 11 ~ 150 kDa에 걸쳐 넓게 분포하고 항원의 분획은 분자량이 큰 순서로 150, 79.6, 66, 58, 49, 47, 34, 30, 27, 22, 20, 19, 18, 12.5, 11 kDa 등의 15 분획이 관찰되었다 (Fig 1). Western blot분석 결과, 음성혈청에서 47, 20 kDa 등 2개의 분획이 반응하였고 양성혈청에서 150, 58, 47, 34, 22, 20 kDa 등 6개의 분획이 관찰되었다 (Fig 2). 음성이거나 양성 혈청에서 공통으로 나타난 분획은 양성과 음성혈청 모두에서 OD값을 증가시키며 비특이성 배경 (nonspecific background) 반응은 나이가 많은 경산돈에서 더 많은 OD값을 증가시키므로 돼지의 연령이 많아짐에 따라 일반적으로 OD값이 높은 경향이 있다⁶. 그러므로 진단의 정확성을 높

이고 비특이성 배경반응을 배제하려면 음성과 양성혈청에서 공통으로 반응하는 항원-항체반응 분획 (본 실험에서 47, 20 kDa)을 조사하여 돼지 음 조항원 (crude antigen)분획에서 제거한 항원으로 ELISA용 항원으로 사용해야 할 것이다.

돼지 음 항원으로 제작한 진단 키트 (ELISA)에 의한 항체 흡광도 (OD값)는 표1, 2와 그림 3에서 보는 바와 같이 음 감염이 진행될수록 OD값이 증가하고 인공감염전과 후의 OD값을 표준혈청으로 자연감염된 후보돈의 혈청과 비감염 (8개월령) 돼지 혈청에서 흡광도 값으로서 양성과 음성의 구별이 가능하였다. 96 well-plate에 도포한 항원은 2개월 후에도 사용이 가능하여 안정성 (stability)이 인정되며, 자연 감염된 돼지의 혈청과 인공감염 전, 후 6개월의 혈청을 ELISA로 함께 측정된 결과 (표 2)에서 종합적으로 판단해 보면 재현성 (reproducibility), 반복성과 유효성이 인정되므로 ELISA로서 사용이 가능하다고 할 수 있다. 실제 양돈장에서 모돈의 나이가 2-4년 정도가 되므로 OD값이 높게 나타나며 국내 실정으로 분만 전에 돼지 음 치료가 실시되기 때문에 경산돈은 4-8회 정도 음 치료 경험이 있을 것이고 음 감염과 치료가 반복되면서 면역 booster효과로 항체가 또한 높게 나타날 것으로 추정된다.

음 종류에 따른 면역학적 교차반응¹⁵이 SDS-PAGE와 immunoblot 분석으로 밝혀지고 대량생산이 가능한 집먼지진드기 (house dust mite)항원을 개 음 항원¹⁶이나 돼지 음 항원으로 대체사용이 가능하다면 돼지나 개에서 음 백신개발도 가능할 것이다. 본 연구에서 제작한 ELISA의 현실적인 사용은 육성돈군에서 돼지 음 감염이나 치료현황을 음 항체가 측정¹⁷으로 판정할 수 있기에 육성돈군의 많은 혈청은 제작한 돼지음 ELISA로서 측정이 가능할 것이다. 앞으로 실용화를 위하여 더 연구해야 할 부분과 미흡한 부분은 2차적으로 야외적용시험을 통하여 수정·보완할 계획이다.

결 론

돼지 음 감염증을 진단할 수 있는 기존의 진단법 (피부채취, 긁고 문지르는 횡수 (scratching and rubbing index), 피부병변 지수 (dermatitis score) 등은 많은 학자들에 의하여 개발되었고 사용되고 있지만 노력과 시간이 많이 소요되고 한번에 많은 가검물을 처리할 없으며 또한 다른 질병과 연관성을 연구하는데 한계가 있다. 그러므로 본 연구에서 한번에 많은 가검물처리가 가능하고 타 질병과의 연관성을 연구할 수 있는 효소면역흡착법 (ELISA)을 키트를 다음과 같이 제작하였다.

분리한 돼지 음의 체항원 (somatic antigens)을 전기 영동한 후, silver 염색으로 항원 구조를 밝히고, 돼지 음 체항원에 대한 항원성을 확인하기 위하여 immunoblotting을 실시하

였다. 이렇게 확인된 돼지 음 체항원으로 ELISA를 제작하여 시험측정 목적으로 인공감염전과 후의 OD값으로서 감수성 (sensitivity)과 특이성 (specificity)을 확인하고 96 well-plate에 도포한 항원은 2개월 후에도 사용이 가능하여 안정성 (stability)이 인정되며, 인공감염전 혈청과 인공감염후 6개월의 혈청을 표준혈청으로 자연 감염된 후보돈 (13개월령)의 혈청과 비감염 돼지 (8개월령)혈청을 ELISA로 함께 측정된 결과를 종합적으로 판단해 보면 재현성 (reproducibility)과 유효성 (validity)이 인정되므로 ELISA로서 사용이 가능할 것이다. 그러나 야외 현장에 직접 적용하기 위해서는 자돈, 육성돈, 모돈의 혈청을 구분하여 OD값을 비교 분석해야 한다.

참고문헌

1. Arends JJ, Stanislaw CM, Gerdon D. Effects of sarcoptic mange on lactating swine and growing pigs. *J Anim Sci* 68 : 1495-1499, 1990.
2. Alva-Valdes R, Wallace DH, Foster AG et al. The effects of sarcoptic mange on the productivity of confined pigs. *Vet Med* 81 : 258-260, 1986.
3. Elbers ARW, Rambag PGM, Van der Heijden HMJF et al. Production performance and pruritic behaviour of pigs naturally infested by *Sarcoptes scabiei* var. *suis* in contact transmission experiment. *Vet Quart* 22 : 145-149, 2000
4. Gaafar SM, Arends JJ, Hogg A et al. An integrated program using Taktic control mange in swine. *J Agri Entomol* 3(4) : 374-381, 1986.
5. Bornstein S and Wallgren P. Serodiagnosis of sarcoptic mange in pigs. *Vet Rec*, 141 : 8-12, 1997.
6. Hollanders W, Vercruyse J, Raes S and Bornstein S. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the serological diagnosis of sarcoptic mange in swine. *Vet Parasitol*, 69 : 117-123, 1997.
7. Jacobson M, Bornstein S and Wallgren P. The efficacy of simplified eradication strategies against sarcoptic mange mite infections in swine herds monitored by an ELISA. *Vet Parasitol*, 81 : 249-258, 1999.
8. Blackshear PJ. Systems for polyacrylamide gel electrophoresis. *Meth Enzymol*, 104 : 237-255, 1984
9. Merril CR, Goldman D, Vankeuren ML. Gel protein stains : silver stain. *Meth Enzymol*, 104 : 441-446, 1984
10. Gershoni JM, Palade GE. Protein blotting : principles and application. *Anal Biochem*, 131 : 1-15, 1983
11. Bornstein S and Zakrisson G. Clinical picture and antibody response in pigs infected by *Sarcoptes scabiei* var. *suis*. *Vet Dermatol* 4 : 123-131, 1993.
12. Smets K and Vercruyse J. Evaluation of different methods for diagnosis of scabies in swine. *Vet Parasitol* 90 : 137-145, 2000.
13. Arlian LG, Morgan MS, Vyszynski-Moher DL et al. *Sarcoptes scabiei* : the circulating antibody response and induced immunity to scabies. *Exp Parasitol* 78 : 37-50, 1994
14. Van der Heijden, HMJF, Rambag, PGM and Elbers, ARW. Validation of ELISAs for the detection of antibodies to *Sarcoptes scabiei* in pigs. *Vet Parasitol*, 89 : 95-107, 2000.
15. Arlian LG, Morgan MS and Arends JJ. Immunologic cross-reactivity among various strains of *Sarcoptes scabiei*. *J. Parasitol.*, 82(1) : 66-72, 1996.
16. Arlian LG and Morgan MS. Serum antibody to *Sarcoptes scabiei* and house dust mite prior to during the infestation with *Sarcoptes scabiei*. *Vet Parasitol*, 90 : 315-326, 2000.
17. Wallgren P and Bornstein S. The spread of porcine sarcoptic mange during the fattening period revealed by development of antibodies to *Sarcoptes scabiei*. *Vet Parasitol*, 73 : 315- 324, 1997.
18. 위생 · 방역관리 우수종돈장 인증요령(농림부 고시 제 1996-58호, 1996. 8). *대한수의사회지* 32(10) : 646-655. 1996