

碩士學位論文

제주 사육마의 일본뇌염바이러스
감염에 대한 혈청학적 조사

濟州大學校 大學院

獸醫學科



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

梁宰赫

1998年 2月

제주 사육마의 일본뇌염바이러스 감염에
대한 혈청학적 조사

指導教授 林 允 圭

梁 宰 赫

이 論文을 獸醫學 碩士學位 論文으로 提出함.

1997年 12月



梁宰赫의 獸醫學 碩士學位 論文을 認准함.

審査委員長 _____ (인)
委 員 _____ (인)
委 員 _____ (인)

濟州大學校 大學院

1998年 2月

초 록

제주 사육마의 일본뇌염바이러스 감염에 대한 혈청학적 조사

(지도교수 : 임윤규)

양재혁

제주대학교 대학원

수의학과

제주에서 사육되는 323두의 말을 대상으로 혈구응집억제반응법을 이용하여 일본뇌염바이러스에 대한 항체양성율을 조사하였다. 효소면역측정법을 말에서의 일본뇌염바이러스 항체측정법으로서 이용가능성을 알아보기 위하여 적용시켜 보았다.

전제적인 항체 양성율은 50.4%로 나타났으며 또한 양성율은 나이에 따라 증가하였다. 계절적으로는 10월에 가장 높은 양성율을 보였다. 제주 조랑말은 더러브렛 중에 비하여 높은 양성율을 보였다. 혈구응집억제반응법과 효소면역측정법으로 측정된 결과를 비교하였을 때 낮은 상관관계를 보였다($r=0.7100$). 한편 일본뇌염바이러스로 중화시킨 혈청을 효소면역측정법으로 비교하며 진양성 및 가양성을 구분할 수 있었다.

중심어 : 일본뇌염바이러스, 혈구응집억제반응법, 효소면역측정법, 제주, 말

목 차

I. 서	론.....	1
II. 재료 및 방법.....		3
III. 결	과.....	5
IV. 고	찰.....	11
V. 결	론.....	14
VI. 참 고 문 헌.....		15
영 문 초 록.....		20



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

I. 서론

제주 지역에는 현재 약 4000여두의 말이 사육되고 있으며, 사면이 바다로 둘러싸여 있어서 적절한 사양관리와 질병 모니터링을 수행한다면 대단히 경쟁력있는 마필육성사업이 가능한 최적의 입지조건을 갖추고 있다.

국내에서 문제되는 말의 질병으로는 전염성 빈혈, 일본뇌염, 비강폐렴, Virus성 동맥염, Influenza, Getah virus 감염증 등을 들 수 있다 (가축위생연구소, 1986). 인수공통전염병인 일본뇌염은 말에서 높은 치사율과 다양한 후유증을 나타내므로 마필의 건강과 사람의 공중보건학적 관점에서 매우 중요한 질병이다 (John 등, 1988). 그리고 사람을 비롯한 각종 포유류, 냉혈동물과 박쥐, 조류, 다람쥐 등에서는 일반적으로 임상증상을 보이지 않으면서 일본뇌염 바이러스에 대한 항체는 보유하고 있는 것으로 보아 대부분이 불현성 감염으로 경과하고 극히 일부만이 현성감염으로 경과하는 것으로 생각된다 (Hammon 등, 1958; Sulkin 등, 1966; Middlebrooks 등, 1967; 김 등, 1969; 조 등, 1970; 이 등, 1973; 이 등, 1977; 서 등, 1983; 송, 1991). 그러나 일단 임상증상을 보이는 예에서는 중대한 병적 경과와 후유증을 남기게 되므로 (권 등, 1977) 이 질병의 조기진단과 예방이 필요한 것이다.

제주지방에서의 말의 일본뇌염 항체양성율은 1985년도에 66.2%로 제주를 제외한 지역의 양성율이 53%인데 반하여 제주지역의 경우 타지방 보다 높은 양성율을 나타내었다 하여 (가축위생연구소, 1986) 제주지방에서의 일본뇌염에 대한 역학조사의 필요성이 더욱 중요한 문제임을 시사하고 있다.

일본뇌염 병원체는 Flaviviridae Flavivirus이며 생물학적 매개체인 *Culex tritaeniorhynchus*와 *Aedes vexans* 종의 모기에 의해 하절기에 전파된다 (Hammon 등, 1949; Wolfgang 등, 1988; 김, 등 1983). 지역적으로는 주로 한국, 일본, 중국, 인도, 네팔, 베트남 등 아시아지역에서 문제시되고 있고 (Umenai 등, 1985) 두 종류의 매개모기가 제주에도 서식하고 있다고 보고된 바 있으며 (오, 1972) 최근에는 오스트레일리아에서도 일본뇌염이 발생하였다는 보고가 있다 (Hanna 등, 1996).

말에서 일본뇌염을 예방하기 위하여서는 바이러스 존속 및 마필에서의 감염역학조사가 선행되어야 하고, 이에 따라 백신접종이 필요하며 접종한 백신이 적절한 면역을 부여하였는가를 확인함이 또한 중요하다.

일본뇌염 바이러스에 대한 항체의 검출방법은 주로 중화항체법과 혈구응집억제반응법 (Hemagglutination Inhibition test; HI)이 이용되어왔으며, 1970년대초의 Engvall과 Perlman (1971)에 의해 제시된 ELISA법은 바이러스 감염의 혈청학적 진단에 다양하게 이용되고 있으며 ELISA는 중화항체법과 혈구응집억제반응법에 비하여 감도와 특이도가 높으며 많은 수의 시료들을 단 시간에 진단할 수 있는 장점이 있다고 알려져 있고 (Igarashi 등, 1981) 일본뇌염의 진단에도 이용되고 있다 (Bundo 등, 1981; Bundo 등, 1982).

본 연구는 제주지역에 사육되는 말에서의 일본뇌염 발생을 감소시키기 위한 기초자료를 얻기 위하여 마필의 일본뇌염 항체보유정도를 혈구응집억제반응법으로 조사하였다. 그리고 HI와 ELISA의 결과를 비교하여 추후 마필 일본뇌염 체계의 측정에 ELISA를 이용할 수 있을 것인가를 비교하였다.



II. 재료 및 방법

1. 대상동물

제주에서 사육중인 마군을 대상으로 1997년 5월부터 10월까지 한국마사회 소속의 193두 및 육성마 생산농가의 130두를 조사하였으며, 검사대상마군의 구분은 금년도 백신 (대성미생물연구소) 접종여부에 따라 Table 1과 같이 구분하였다.

Table 1. Serum samples distribution by period

	Vaccination	Breed*	May	Jul	Aug	Sep	Oct	Total
Korea Racing Association	+	TH	0	0	0	7	0	7
		CNH	0	6	24	7	3	40
	-	TH	91	0	0	9	0	100
		CNH	0	8	34	1	3	46
Stud farm	-	TH	0	16	49	60	0	125
		CNH	0	5	0	0	0	5
Total			91	35	107	84	6	323

* TH: Thoroughbred. CNH: Cheju native horse.

2. 혈구응집억제반응 (HI)



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

1) 항원

국립보건원으로부터 진단용 일본뇌염 바이러스 (Nakayama strain) 뇌유체를 분양받아 실험에 사용하였다.

2) 거위 적혈구 준비

구연산 포도당액 (Acid-Citrate Dextrose, ACD) 1.5ml와 거위혈액 8.5ml를 잘 혼합하여 4°C에 보관하여 1주일 이내에 사용하였다. HI 시험시 1500rpm으로, 10분간 원심한 후 생리식염수로 3회 세척하고 회석하여 8%의 혈구로 만들고 virus adjusting diluent (VAD; 1.5M NaCl, 0.5M Na₂HPO₄, 1M NaH₂PO₄)로 혈구농도 0.33%되게 회석하여 실험에 사용하였다.

3) 혈구응집억제 반응을 위한 혈청의 처리

가검혈청을 56°C의 항온수조에 30분간 비동화시킨 후 혈청 0.2 ml당 borate saline (pH 9.0) 0.8ml와 kaolin(25%) 1.0ml를 가하고 20분간 흔들어서 비특이적 응집억제소를 배제시켰다. 그 다음 1500rpm으로, 10분간 원심분리하고 비특이적 응집소 (non-specific agglutinin)를 제거하기 위해 거위 혈구 (0.33%) 0.2ml를 각각의 혈청에 가하여 4°C에 20분간 정치시킨 후 1000rpm에서 10분간 원심한 상층액을 HI시험에 이용하였다.

4) 혈구응집억제시험

혈구응집억제시험시 혈구응집시험 (HA)을 실시하였으며 8HA Unit로 희석된 항원을 사용하였다. 가검혈청을 0.4% Bovine serum albumin borate saline (BABS)로 계단 희석한후 항원을 가하여 4°C에서 하룻밤 보관하였다. 다음날 거위 혈구를 가하여 37°C에서 1시간 방치한 후 대조군과 비교해서 판정하였다.

3. 효소면역 측정법 (ELISA)

1) ELISA Plate 준비

ELISA Plate (8 well strip flat-bottom microplates, Costar 2580, U.S.A.)의 각 well에 흡착용 완충액 (50mM Carbonate pH 9.6, containing 0.02% sodium azide)으로 희석한 항원을 0.1ml씩 분주하고 냉장온도에서 약 16시간동안 정치한 후 PBS로 세척하고, 0.5% gelatin-PBS로 실온에서 30분간 봉쇄한 후 PBS로 세척 및 건조하여 냉장 desicator에 넣고 보관하며 실험에 사용하였다.

2) ELISA

혈청을 PBS-T (0.05% Tween 20, pH 7.4)로 50배 희석하여 0.1ml씩 각 well에 가하고 실온에서 1시간동안 반응시켰다. 4회 세척후 Horseradish peroxidase (HRP)가 표지된 protein G를 임 (1991)의 방법대로 제조 및 사용하여 0.1ml씩 가하고 1시간동안 실온에서 반응시킨 다음 4회 세척하고 발색제로 ABTS (2,2'-azino-bis [3-ethylbenzthiazoline 6-sulfonic acid] diamonium)를 넣었다. 30분간의 발색반응이 지나면 0.1ml의 0.005% sodium azide를 가하여 반응을 정지시키고 파장 405nm의 filter로 흡광도를 측정하였다.

III. 결 과

1. 일본뇌염 바이러스 항체의 총양성율

제주에서 사육중인 말에 대하여 일본뇌염 바이러스 항체 보유율은 전체 323개의 혈청 시료중 HI 1:10이상의 항체를 가진 혈청이 179개로서 55.4%의 양성율을 나타내었다. 이 중 백신 미접종군은 50.4% (139/276)의 양성율을 나타내었고 백신접종군은 85.1% (40/47)의 양성율을 나타내었다.

2. 백신 미접종군

1) 연령별 분포

백신을 접종하지 않은 마군에서의 항체보유율은 50.4% (139/276)이며 Fig. 1에 나타내었다. 1세 미만인 경우는 31% (30/97), 1세인 경우는 55% (24/44), 2세인 경우는 57% (51/89) 3세인 경우는 73% (14/19), 4세 이상인 경우는 74% (20/27)를 나타내어 연령증가에 따라 양성율이 증가하는 경향을 보였다.

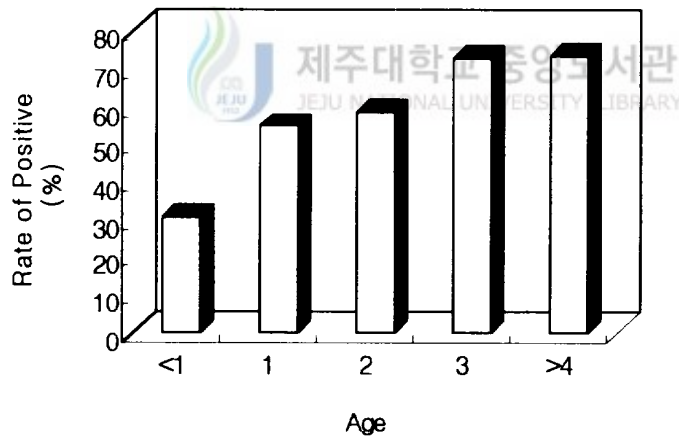


Fig. 1 Age distribution of HI Antibodies against JEV in horses

2) 월별 분포

각 시료를 월별로 조사하였더니 Table 2와 같이 나타났다. 1997년 5월인 경우 57.1% (52/91), 7월인 경우 48.3% (14/29), 8월인 경우 39.8% (33/83), 9월인 경우 54.3% (38/70), 10월인 경우 66.7% (2/3)의 항체보유율을 나타내었다.

Table 2. Monthly distribution of HI Antibodies against JEV in horses

Mon.	No. of Sample	No. of Positive	Rate of Positive (%)
May	91	52	57.1
Jul	29	14	48.3
Aug	83	33	39.8
Sep	70	38	54.3
Oct	3	2	66.7

3) 지역별 분포

제주시, 조천읍, 구좌읍, 성산읍, 표선면, 남원읍을 동부지역으로, 서귀포시, 안덕면, 대정읍, 한경면, 한림읍, 애월읍을 서부지역으로 구분하여 일본뇌염 바이러스 항체양성율은 Table 3과 같이 동부지역의 경우 53% (90/169)를 나타내었고 서부지역에서는 46% (49/109)를 나타내어 동서지역간의 뚜렷한 차이는 나타나지 않았다.

Table 3. Areal distribution of HI Antibodies against JEV in horses

Area *	No. of Sample	No. of Positive	Rate of Positive (%)
Eastern	169	90	53
Western	107	49	46

* Eastern Area: Cheju city, Chochun, Koojwa, Sungsan, Pyosun, Namwon.

Western Area: Sogwipo city, Anduk, Daejung, Hankyung, Hanlim, Aewol.

4) 품종별 분포

더러브레드 종과 제주 조랑말의 일본뇌염 바이러스 항체양성율의 비교는 Table 4에 나타내었다. 더러브레드 종은 41% (90/219)를 나타내었고 제주 조랑말은 86% (49/57)를 나타내어 제주 조랑말이 항체양성율이 높게 나타났다.

Table 4. Breed distribution of HI Antibodies against JEV in horses

Breed *	No. of Sample	No. of Positive	Rate of Positive (%)
TH	219	90	41.1
CNH	57	49	85.9

* TH; Thoroughbred. CNH; Cheju native horse.

3. 백신 접종군의 연령별 분포

2세에서 4세 이상의 일본뇌염 백신 접종을 한 말 47마리를 대상으로 조사하였으며, HI 항체가 1:10이상을 나타낸 양성축은 40마리로서 85.1%의 항체양성율을 나타내었다. 이 중 연령별의 분포는 Table 5와 같이 2세마에서는 85.7% (24/28) 3세마가 90.0% (9/10) 4세 이상 마에서 79.8% (7/9)로 연령에 따른 항체양성율은 큰 차이를 보이지 않았다.

Table 5. Age distribution of HI Antibodies against JEV in vaccinated horses

Age	No. of Sample	No. of Positive	Rate of Positive (%)
2	28	24	85.7
3	10	9	90.0
≥4	9	7	79.8

4. ELISA

1) ELISA의 최적조건

항원흡착 및 혈청의 적정농도를 결정하기 위하여 항원을 4.0, 2.0 및 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 희석하여 흡착시키고 혈청을 100, 200, 400, 800, 1600, 3200, 6400 및 12800배로 희석하여 반응시켰다. Fig. 2는 각 흡착항원의 희석농도별로 계단희석된 혈청이 반응한 정도를 나타낸 곡선이며, 혈청의 희석배수변화에 따른 반응의 상관관계를 적절히 나타내 줄 수 있는 흡착항원의 희석농도는 2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 임을 알 수 있었고 흡착된 항원의 농도변화에 따른 반응의 상관관계를 적절히 나타내 줄 수 있는 혈청의 희석배수는 200배 이상으로 판단하였다. 그러므로 이 후의 ELISA는 항원희석 150배, 혈청희석 200배의 조건을 선택하여 실시하였다.

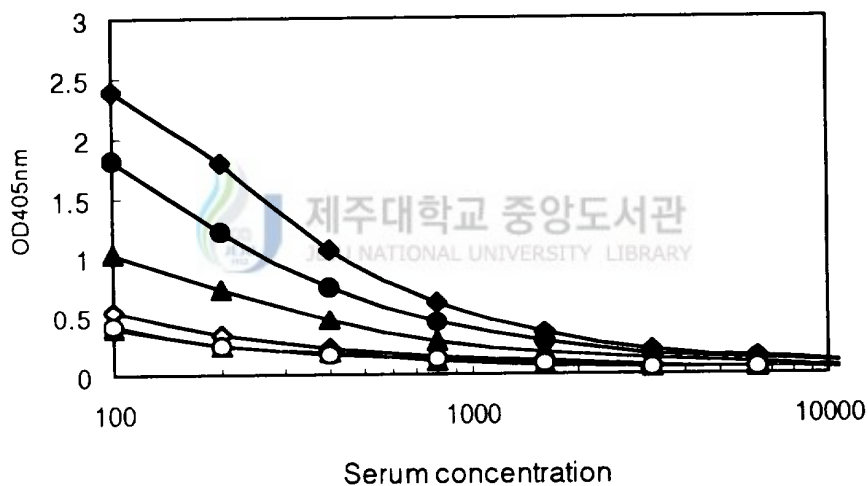


Fig. 2 Optimizaion of coating antigen and serum dilution
(Ag Concentration diamond: 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$; circle: 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$;
triangle: 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Solid symbol: positive serum; void
symbol: negative serum)

2) ELISA와 HI결과의 상관관계

일본뇌염 백신 접종을 한 말의 혈청 15개를 대상으로 ELISA와 HI를 실시하여 측정된 결과의 상관관계를 Fig. 3에 나타내었다. 상관계수 r 은 0.7100으로서 두 방법에 따라측정한 결과간에는 낮은 상관관계를 보이고 있었으며, 부분적으로 일치하지 않는 결과를 보이는 시료도 있었으므로 HI titer 10미만을 나타낸 시료 3건 (h83, h220, h317)을 대상으로 추가적인 확인 시험을 실시하였다.

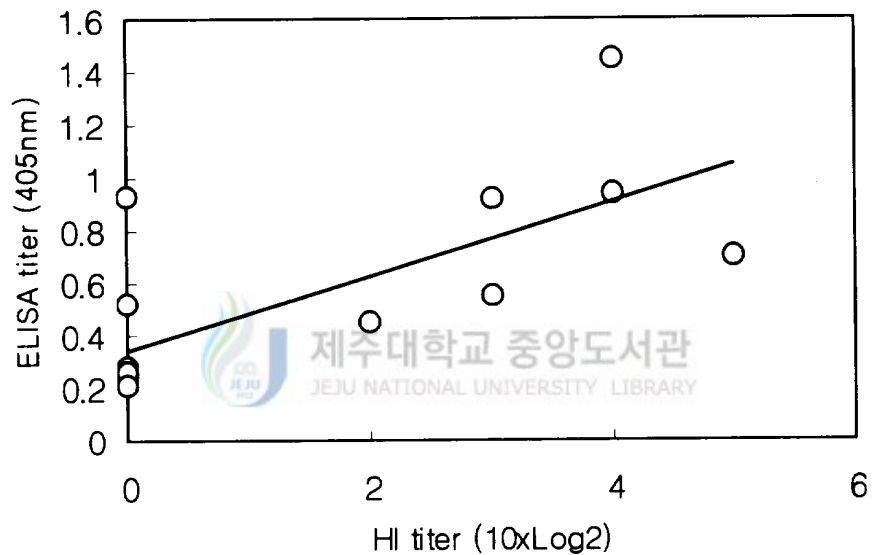


Fig. 3 Relation of ELISA and HI titers in serum samples from 15 vaccinated horses.

3) ELISA에 의한 확인시험

HI titer가 10 미만으로 나타난 혈청시료 중 ELISA의 결과는 h220 및 h317의 경우 흡광도 0.5 이상의 높은 값을 나타내어, 이러한 결과의 가양성반응 혹은 가음성반응 여부를 결정하기 위하여 2건의 혈청과 두 방법에서 공히 음성으로 판정된 h83 혈청을 계단 희석한 후 정제된 JEV 3 μ g씩 가하고 ELISA를 실시한 결과, Fig. 4와 같이 h83번의 경우는 바이러스항원의 첨가와 무관하게 동일한 정도의 반응 곡선을 보였으나, 상기의 2 혈청은 바이러스항원을 가한 시료의 반응 곡선이 첨가전의 시료에 비하여 상대적으로 낮은 반응값을 나타내었으므로 해당 혈청은 HI에 의한 가음성반응으로 판단하였다.

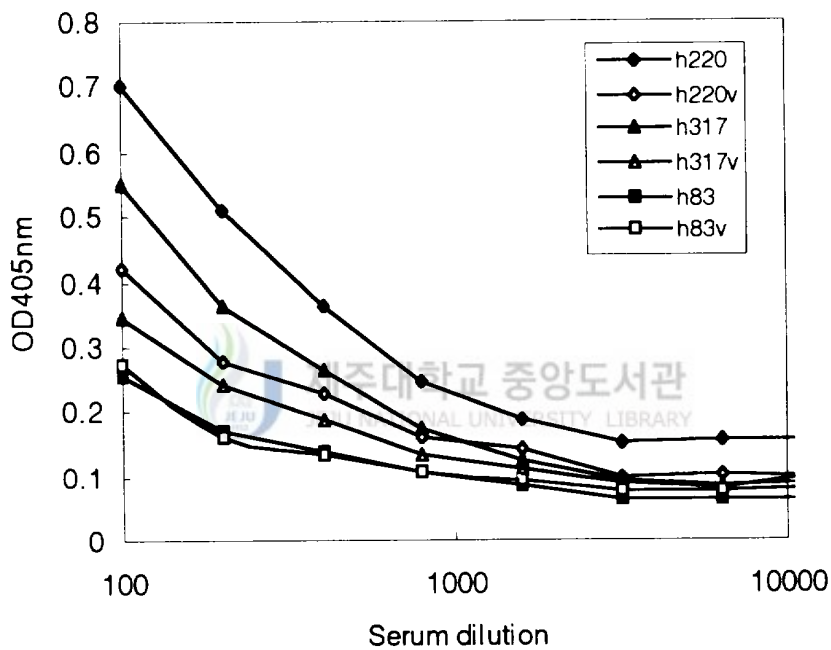


Fig. 4 Comparison of standard curve patterns according to the serum dilutions (void symbol: sera neutralized with viral antigen)

IV. 고 찰

말은 가축 중에서 일본뇌염에 대한 감수성이 제일 높은 동물로 알려져 있으며, 일본뇌염은 말에서 발열, 침울, 경련, 광폭, 마비, 기면 등의 임상증상을 보이는 주요한 감염병이고 (수의전염병학 교수협의회, 1994) 지역적으로는 한국을 비롯한 동남 아시아의 여러 국가에 발생하여 문제시되고 있다 (Umenai 등, 1985).

따라서 말에서의 일본뇌염 감염에 대한 기초적인 역학자료는 반드시 필요할 것으로 사료되며 또한 일본뇌염의 조기 진단과 예방은 국내 말산업의 기반을 강화하고 육성활성화에 이바지함에 상당히 의미있는 일이라 생각된다.

본 연구에서는 제주지역에서 사육되는 마군의 일본뇌염바이러스에 대한 항체 양성율은 백신 미접종 마군에서 50.4%를 나타내었는데 이 값은 1985년도에는 제주를 제외한 지역의 양성율이 53%이고 제주지역의 경우 66.2%에 달했다고 (가축위생연구소, 1986) 보고한 것과 비교할 때 감소의 추이를 보였다. 이는 사육환경의 개선에 따른 매개체와 접촉 감소에 기인하였다고도 생각할 수 있으나, 보다 정밀한 검사방법에 의해 얻어진 결과로 비교하여 결론을 내려야 할 것으로 사료된다.

일본뇌염바이러스에 대한 항체양성율은 연령의 증가에 따라 비례적으로 증가하였으며, 이는 일본뇌염 매개체인 모기와 마군과의 필연적인 접촉기회의 증가에 기인하는 것으로 생각되었다.

계절적인 변동은 10월에 최고치를 나타내었는데, 이는 정 등 (1971)이 1968년 5월부터 10월까지의 하절기에 81.7%에 이르는 높은 양성율을 나타내었음을 보고한 것과 일치하는 결과이며, 전파매개체의 활동이 왕성한 8월 이후의 항체증가와 당연한 관련이 있었던 것으로 생각된다.

지역별로는 동부지역 (53%)이 서부지역 (46%) 보다 높은 양성률을 나타냈으나 유의할 만한 차이는 아닌 것으로 생각되었는데 본 연구에서는 고 (1996)가 보고한 바 동부지역의 채집모기 중 일본뇌염의 매개체로 알려진 작은 빨간집모기의 비율 (49.3%)이 서부지역 (40.0%)보다 다소 높았다는 것에 근거하여 동서부지역 간의 일본뇌염 발생의 차이를 확인코자 지역간의 항체양성율을 비교하였으나 결

과적으로, 지역간의 항체양성율의 유의적 차이가 없는 것으로 사료되었다. 그러나 말의 일본뇌염 항체양성율과 작은 빨간집모기의 채집비율과의 역학적인 관계의 비교는 마혈청의 채취지역과 모기채집지역이 일치하지 않았으므로 역학에 관여하는 인자의 정확한 비교가 어려웠으나 추후 지역적으로 보다 광범위한 시료 채취로 실시하고 분석하여 이에 대한 상관성을 조사할 필요가 있는 것으로 사료되었다.

품종별 비교결과는 제주 조랑말의 경우가 더러브레드 종에 비하여 높게 나타났다. 이는 제주지역에서 태어나 사육된 말들의 사양관리 상태가 매개체와 접촉이 빈번하였음에 비롯되었을 것으로 생각되며, 따라서 육성과정중에 불현성 감염을 일으킨 결과로 생각된다. 한편, 일부 더러브레드 종들은 일본뇌염 발생보고가 없는 미국, 캐나다 등에서 수입된지 2년 미만의 말들이며 상대적으로 제주 조랑말에 비해 매개체와의 접촉기회가 적었을 것으로 생각된다.

일본뇌염 백신을 접종한 말에서는 연령에 따른 유의한 차이는 없었고 거의 동일한 수준을 나타내었다. 이는 백신접종에 의한 항체형성이 인위적으로 일률적으로 이루어진 당연한 결과로 생각되었다.

한편 일본뇌염 바이러스에 대한 항체검사법으로서의 ELISA는 방법상의 편리성과 특이도 민감도의 측면에서 HI법에 비하여 많은 장점을 갖는 것으로 일반적으로 알려져 있다. 본 연구의 결과로는 HI법과 비교할 때 측정결과간의 상관관계는 높지는 않은 것으로 나타났다 ($r=0.7100$). 그러나 HI법을 실시할 때 다양한 응집억제인자 및 비특이적 응집인자가 혼존하여 있는 혈청시료를 처리함에 따라 다양하고 상이한 결과가 필연적으로 얻어질 수 있으며, 본 연구에서도 특이항체를 중화시킨 후 비교검사가 가능한 ELISA법에 비하여 확인 판정의 방법이 없다는 점은 공정시험법으로서의 HI법의 한계라고 생각된다. 이러한 단적인 예로 HI에서 음성으로 나타난 혈청을 바이러스항원으로 중화시킨 후 ELISA로 확인한 결과 양성으로 판정된 사실로 이러한 필요성을 입증하여 주고 있다. 이는 HI법을 사용하여 일본뇌염 항체양성을 확인판정하는 것에 대하여 좀 더 숙고해야 함을 예증하는 것이다.

추후의 계속연구를 위해서, ELISA를 위한 항원의 준비는 다양한 바이러스의 항원 중 혈구응집소만을 순수 분리한 후 이를 사용하여 특이도를 더욱 높여야

할 필요가 있을 것으로 사료된다.

이상의 조사 결과는 제주지역에서 사육중인 말에서의 일본뇌염 바이러스 항체 보유율은 문헌상으로 나타난 타지역의 것에 비하여 상당히 높은 것으로 나타났으며 연령이 증가함에 따라 비례적으로 증가한다는 것을 보여주고 있어 사양위생의 내실이 필요할 것으로 사료된다.



V. 결 론

제주 지역에서 사육되는 마필의 일본뇌염바이러스에 대한 감염상황을 알아보기 위하여 한국마사회소속의 일본뇌염 백신 미접종말 146두와 백신 접종말 47두, 육성마 농가의 미접종말 130두를 대상으로 일본뇌염 바이러스에 대한 혈청역학적 조사를 실시하였고 측정법으로서 ELISA의 효용성을 알아보기 위한 실험에서 다음과 같은 결과를 얻었다

1. 일본뇌염 백신 미접종 마군에서의 바이러스에 대한 항체 보유율은 50.4% (139/276)를 나타내었다.
2. 연령별 분포는 1세 미만 30.9% (30/97), 1세가 54.5% (24/44), 2세가 57.3% (51/89), 3세가 73.7% (14/19), 4세 이상이 74.1% (20/27)를 나타내었고 월별 분포는 5월이 57.1% (52/91), 7월이 48.3% (14/29), 8월이 39.8% (33/83) 9월이 54.5% (38/70), 10월이 66.7% (2/3)를 나타내었으며 지역별 분포로는 동부지역이 53% (90/169), 서부지역이 46% (49/109)를 나타내었다. 그리고 품종별 분포는 더러브레드종이 41.1% (90/219), 제주조랑말이 85.9% (49/57)를 나타내었다.
3. 일본뇌염백신을 접종한 말에서는 85.1% (40/47)의 항체형성률을 나타내었다. 2세마가 85.7% (24/28), 3세마가 90.05% (9/10), 4세이상의 마가 79.8% (7/9)를 나타내었다.
4. HI의 결과를 ELISA와 비교했을 때 낮은 상관관계 ($r=0.7100$)를 나타내었다.

Ⅵ 참고문헌

- Bundo, K., Igarashi, A., Goto, I., Morita, K., Hayashi, K., Yamada, A., Douke, S., Sakai, S., Katsuki, K., Watanabe, K. and Ishii, K. 1982a. Enzyme-linked immunosorbent assay on Japanese encephalitis virus. V. Antibody levels among inhabitants in endemic and nonendemic areas. *Trop. Med.*, 24: 139-150.
- Bundo, K., Morita, K. and Igarashi, A. 1982b. Enzyme-linked immuosorbent assay (ELISA) on Japanese encephalitis virus. III. Assay on antibody titers in swine sera. *Trop. Med.*, 24: 87-102.
- Bundo, K., Matsuo, S. and Igarashi, A. 1981. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) on Japanese encephalitis virus. II. Antibody levels in the patient sera. *Trop. Med.*, 23: 135-148.
- Engvall, E., Perlman, P. 1971. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*, 8: 871-874.
- Hammom, W.M^cD., Sather G.E. and M^cClure, H.E. 1958. Serologic survey of Japanese encephalitis virus infection in birds in Japan. *Am. J. Hyg.*, 67:118-133.
- Hammom, W.M^cD., Tigertt, W.D., Sather, G. and Schenker, H. 1949. Isolation of Japanese B encephalitis virus from naturally infected *Culex tritaeniorhynchus* collected in Japan. *Am. J. Hyg.*, 50: 51-56.

-
- Hanna, J.N., Ritchie, S.A., Phillips, D.A., Shield, J., Bailey, M.C., Mackenzie, J.S., Poidinger, M., McCall, B.J. and Mills, P.J. 1996. An outbreak of Japanese encephalitis in the Torres Strait, Australia, 1995. *Med. J. Aust. Vol.* 165. No. 5. 256-260.
- Igarashi, A., Bundo, K., Matsuo, S., Makino, Y., Lin, W.J. 1981. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) on Japanese encephalitis virus. I. Basic condition of the assay on human immunoglobulin. *Trop. Med.*, 23: 49-59.
- John, F.T., James, H.G., Fredric, W.S. and Jeffrey, E.B. 1988. *Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Disease of Domestic Animals*. Cornell University. 8th. ed. 768-769.
- Juang, R.F., Okuno, Y., Fukunaka, T., Tadano, M., Fukai, K., Baba, K., Tsuda, N., Yamada, A. and Yabuuchi, H. 1983. Neutralizing antibody responses to Japanese encephalitis vaccine in children. *Biken J.*, 26: 25-34.
- Kim, K.H. and Kono, R. 1969. Comparative epidemiological features of Japanese encephalitis in the Republic of Korea, China(Taiwan) and Japan. *Bull. WHO.*, 40: 263-277.
- Leonard, L.L., Allen, R. and Sulkin, S.E. 1968. Bat immunoglobulins formed in response to experimental Japanese B encephalitis (JBE) virus infection. *J. Immuno.* 101(6). 1168-1175
- Middlebrooks, B.L., Sulkin, S.E. and Allen, R. 1969. Studies of arthropod-borne virus infections in Chiroptera. V. Characteristic of lines of



Japanese B encephalitis virus developed by serial passage in big brown bats (*Eptesicus fuscus*) Maintained at different environmental temperatures. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, 18: 115-122.

Quina, M.A., Soe, T., Auwanich, W., Okuno, Y., Igarashi, A. and Fukai, K. 1978. Changes in dengue and Japanese encephalitis(JE) antibody after JE vaccination. *Biken J.*, 21: 149-159.

Sulkin, S.E., Allen, R. and Sims, R. 1966. Studies of arthropod-borne virus infections in Chiroptera. III. Influence of environmental temperature on experimental infection with Japanese B and St. Louis encephalitis viruses. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, 15: 406-417.

Susilowati, S., Okuno, Y., Fukunaga, T., Tadano, M., Juang, R.F. and Fukai, K. 1981. Neutralization antibody responses induced by Japanese encephalitis virus vaccine. *Biken. J.*, 24: 137-145.

Umenai, T., Krzysko, R., Bektimirov, A. and Assaad, F.A. 1985. Japanese encephalitis: current worldwide status. *Bull. WHO.*, 63: 625-631.

Wolfgang, K., Hilda, P., Bernard, D. and Catherine, M. 1988. *Zinsser Microbiology*. 19th. ed. Prentice-Hall 842-847.

가축위생연구소. 1986. '85년도 마필 전염병검진사업 실시결과 보고서. 대한수의사회지. 22.(1): 51-56.

고용구. 1996. 제주도내 일본뇌염 매개종, 작은빨간집모기(파리목;모기과)에 관한 연구. 인천대학교 박사학위청구논문.

- 권혁진, 이창구, 강병직, 임영문. 1974. 돼지 일본뇌염 생독백신에 관한 연구. I. 이환 신생자돈의 일본뇌염 바이러스 (안양주) 분리. 가축위생연구소. 16: 1-5.
- 권혁진, 임영문, 이창구, 전윤성. 1977. 말의 일본뇌염 생독백신 개발 및 조직배양법의 개량. 농촌진흥청 농사시험 연구보고. 1-5
- 김경호, 백승복, 장경식. 1967. 일본뇌염 역학조사연구. 보건연구원년보. 4: 55-72.
- 김정순, 이인숙, 임현술, 이주원, 신석우. 1983. 1982년 우리나라 일본뇌염유행의 역학적 특성. 한국역학회지. 5(1): 1-27.
- 서준석, 조해월, 홍용혜. 1983. 일본뇌염 바이러스의 자연계 생활환 및 생태에 관한 연구 (1) 일본뇌염 바이러스 유행전.후기를 통한 한국인의 항체분포에 관한 연구. 국립보건원보. 20: 119-123.
- 송재용. 1991. 한국 야생동물의 일본뇌염, 신증후출혈열 및 B형 간염 바이러스의 감염상 단국대학교 박사학위 논문.
- 수의전염병학 교수협의회. 1994. 수의전염병학. 경북대학교 출판부. 174.
- 오문유. 1972. 제주도 산(産) 모기(蚊)에 관한 연구. 제대논문집. 4: 293-299.
- 이연태, 이윤일, 김경숙, 김영숙, 이종훈. 1973. 박쥐혈청의 일본뇌염 바이러스에 대한 중화항체. 중앙의학. 25: 345-348.
- 이연태. 이종훈. 1977. 한국인의 일본뇌염 바이러스에 대한 면역체(HI)보유율. 대한미생 물학회지. 12.(1): 51-56.

임윤규. 1991. Protein G를 이용한 효소표지면역반응법의 확립과 실험동물에서의 Sendai Virus에 대한 항체검출. 서울대학교 박사학위논문.

정영채, 문재봉, 강병직, 권혁진, 최희인. 1971. 일본뇌염에 대한 한국가축에서의 혈청학적 조사 연구. 대한수의학회지. 11(2): 163-170.

조관수, 권경만, 김용희. 1970. 일본뇌염의 역학적 조사연구. 대한 수의학회지. 10 (2): 59-66.



Serological Survey of Japanese B Encephalitis in Horses, Cheju

Jae-Hyuk Yang

**Department of Veterinary Medicine
Graduate School, Cheju National University
Cheju, Korea**

(Supervised by Professor Yoon-Kyu Lim)

Abstract

Seropositivity against Japanese B Encephalitis Virus (JEV) was measured by hemagglutination inhibition test (HI) on sera from 323 horses raised in Cheju. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method was applied for the confirmation of its availability as a tool of detecting anti-JEV antibodies in horses. The positive rate scored 50.4%. The positive rates were increased according to ages. The highest peak was shown at October. And Cheju native horses showed higher positivity than those of Thoroughbred breed. When compared the results obtained by HI and ELISA, there was slight correlationship

A thesis submitted to the Committee of the Graduate School of Cheju National University in partial fulfillment of the requirements for the degree of the master of veterinary medicine

between the two methods ($r=0.7100$). Besides, ELISA could discriminate between true and false positive sera by neutralizing serum specimen with JEV antigen.



Keywords : Japanese B Encephalitis Virus (JEV), Hemagglutination inhibition test (HI), Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Cheju, Horses

감사의 글

아무것도 모르던 제게 늘 새벽별이 빛날 때 까지 따스한 가르침과 지혜와 사랑을 주신 임윤규 교수님께 머리숙여 감사드립니다.

좋은 논문이 되도록 격려와 지적을 해 주신 이두식 교수님과 이경갑 교수님, 신태균 교수님께도 감사드리며 공중보건학 교실의 김성희 원우, 동기, 후배들에게도 고마움을 전합니다. 늘 조언을 아끼지 않으셨던 축산진흥원의 김우택 계장님과 보건환경연구원의 김영주, 한창수 선생님, 한국마사회 이승모 소장님 등 여러분들과 특히 동생처럼 아껴주셨던 최종복, 이용덕 계장님께도 감사드립니다.

문헌을 찾는데 큰 힘이 되어주신 한림의대 양익 교수님, 서울대 김찬수 선생님, 일본유학중인 박소영, 고 선생님께도 고마움을 전하며 바이엘 코리아 여러분과 우종구, 문기남, 박민수 사장님께도 감사드립니다.

그리고 오늘날까지 사랑으로 지켜보시며 뒷바라지 해주신 어머님과 누나, 동생과 기쁨을 나누고자 하며 아버님 영전에 이 글을 바칩니다.

