

# B<sub>1</sub> 뉴캐슬病毒에 의한 단닌酸處理鷄赤血球의 血球凝集反應

忠淸大學校 農科大學 畜產學科

金 相 烈

## Hemagglutination of Tanned Chicken Erythrocytes by Newcastle Disease Virus (B<sub>1</sub> Strain)

SANG-YEOL KIM

Department of Animal Husbandry  
College Of Agriculture, Choong Cheong-University

### SUMMARY

Fazekas observed that fowl or human erythrocytes treated with a modifying dose of potassium periodate remained agglutinable by influenza virus but the adsorbed virus did not elute spontaneously. In this study, chicken erythrocytes treated with the high dilution of tannic acid were found to be agglutinated by allantoic fluid infected with the B<sub>1</sub> strain of Newcastle disease virus, but the spontaneous elution phenomenon was absent. The hemagglutination of tanned chicken erythrocytes by the B<sub>1</sub> virus infected allantoic fluid was also specifically inhibited by an Newcastle immune serum but not by a normal chicken serum.

### I. 緒 論

Fazekas(1)는 鷄·人赤血球을 適量의 過沃度酸加里(KI04)로 處理할때 Influenza病毒에 依하여 역시 血球凝集反應을 일으키되 Elution 現象이 없었거됨을 觀察한바 있다.

本研究에서는 단닌酸으로 處理된 鷄赤血球가 B<sub>1</sub>病毒에 依하여 Elution現象이 없는 血球凝集反應을 일으킴을 觀察하였다.

### II 實驗材料·方法

뉴캐슬病毒—B<sub>1</sub> 뉴캐슬病毒(2)感染의 鷄胎兒尿管腔液을 사용하였으며 無菌檢査(3)를 하고 使用時까지 60°C에서 保存하였음.

病毒力價를 달리하는 5個셀풀을 사용하였음.

磷酸鹽배양食鹽水(PBS)—血球의 洗滌·浮游, 血清의 稀釋에는 磷酸鹽배양食鹽水PH7.2를 사용하였음.

PBS는 0.15M磷酸鹽배양에 同量의 生理的食鹽水를 混合하여 만들었으며 PH7.2의 0.15M磷酸鹽배양과는 適量의 0.15M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>와 0.15M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>를 混合한것이며 PH測定에는 백크만 PH 메타(Beckman Glass Electrode PH meter)를 사용하였음.

鷄赤血球—正常成鷄三首에서 同量씩의 血液을 無菌의 으로 採血, 同量의 滅菌 Alsever液(4)에 混合하여 冷藏庫에 保存하였음.

使用時에는 PBS로 3回洗滌하고(International Clinical Centrifuge, Arthur S. Lapine으로 1500RPM에서 5分間) 단닌酸處理를 爲하여 PBS로 2.5%浮游液을 만들었음.

단닌酸處理—단닌酸(E. Merck)을 生理的食鹽水로 1:100稀釋液을 만들어 原液으로서 冷藏庫에 保存하고 使用直前に PBS로 이것을 다시금 1:320,000으로 稀釋, 赤血球處理에 사용하였음.

赤血球의 단닌酸處理는 2.5%赤血球에 同量의 단닌酸液(1:320,000)을 混合하고 室溫에서 5分間 作用시킨후 遠沈1000RPM에서 5分間하고 PBS로 1回洗滌(1500RPM에서 5分間)후 0.5%浮游液을 만들었으며 이것을 血球凝集反應 및 血球凝集抑制反應에 사용하였음.

血球凝集反應(HA)—0.25ml容량의 B<sub>1</sub>病毒의 倍數 順次稀釋液을 2列만들어 그 1列의 各試驗管에는 0.5%正常赤血球을 0.25ml씩 다른 1列에는 0.5%단닌酸處理赤血球을 0.25ml씩 混合하였고 各列마다 食鹽水 對照를 두었음 (第1表).

第1表 B<sub>1</sub>病毒에 의한 正常 및 단닌酸處理赤血球의 血球凝集反應術式

	試 驗 管										食鹽水 對照
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	01	
Virus 稀釋											
PBS(ml)	2.4	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	—
B <sub>1</sub> 病毒(ml)	0.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	—
B <sub>1</sub> 病毒의 稀釋度	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	—
HA病毒正常赤血赤球											
B <sub>1</sub> 病毒(ml)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	—
0.5% 正常赤血球(ml)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
PBS(ml)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.25
B <sub>1</sub> 病毒(ml)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	—
0.5% 단닌酸處理赤血球(ml)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
HA反應(단닌酸處理赤血球)											
PBS(ml)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.25

室溫에서 血球凝集力價의 測定

↓  
37°C에서 120分間保存후 다시 血球凝集力價의 測定

混合후 室溫에 靜置하고 食鹽水對照에 있어 赤血球가 完全히 管底에 沈澱하였을때 Salk氏法(5)에 依하여 血球凝集力價를 測定하였음.

室溫에서의 血球凝集力價를 測定한다음 Elution現象을 觀察하기 爲하여 곧 이것을 37°C의 定溫槽에 靜置하고 120分후에 다시금 그의 血球凝集力價를 測定하였음.

血球凝集抑制反應(HI)—Cunningham의 배타方法(3)에 依하였으며 正常赤血球와 단닌酸處理赤血球를 사용하여 比較하였음. 使用된 正常 및 免疫血清은 同時日에 孵化한 Leghorn種中雛(8週)에서 採取한 것이며 血清은 非動化하였고 HI反應에 앞서 단닌酸處理赤血球와 作用시킴으로써 단닌酸處理赤血球에 대한 非特異的凝集素를 吸收除去하였음.

### Ⅲ. 實驗結果

1:320,000으로 稀釋된 단닌酸으로 處理된 鷄赤血球는 B<sub>1</sub>病毒에 依하여 特異하게 凝集되었으며 대체로 正常赤血球를 使用하였을 경우에 比하여 2倍 높은 力價를 보였음. (第2表)

第2表 B<sub>1</sub>病毒에 의한 단닌酸處理鷄赤血球의 Elution 없는 血球凝集反應

B <sub>1</sub> 病毒	室溫		37°C	
	N-RBC*	TA-RBC**	N-RBC	TA-RBC
1	320***	640	0	640
2	640	640	0	640
3	320	640	0	640
4	1280	2560	0	2560
5	320	640	0	640

\* 正常鷄赤血球

\*\* 단닌酸處理鷄赤血球

\*\*\* 血球凝集價

37°C에서 120分間 作用시킨후에는 正常鷄赤血球를 사용한 試驗管列에 있어서는 Elution現象이 일어나 室溫에서 形成되었던 血球凝集反應이 없어지고 모두 血球가 管底에 沈澱되어 食鹽水對照와 同一하게 되었음에 反하여 단닌酸處理鷄赤血球의 경우에 있어서는 血球凝集反應에 아무런 變化가 없고 37°C室溫槽에 넣기前과 同一한 狀態에 있었음. (第3表)

正常鷄赤血球와 단닌酸處理鷄赤血球를 사용한 同一

한 HI反應에 있어서는 第3表에 表示된 바와 같이 그의 HI力價에 差異가 없었으며

第3表 正常鷄赤血球 및 단닌酸處理鷄赤血球를 사용한 血球凝集抑制反應

赤血球	HI力價	
	正常血清	免疫血清
N-RBC*	20	320
TA-RBC**	20	320

\* 正常鷄赤血球

\*\* 단닌酸處理鷄赤血球

B<sub>1</sub>病毒感染 鷄胎兒尿膜腔液에 의한 단닌酸處理鷄赤血球의 血球凝集反應을 뉴캐슬免疫血清에 의하여 特異的으로 抑制되었음.

#### IV. 考 察

B<sub>1</sub>病毒感染된 鷄胎兒尿膜腔液은 室溫에서 正常鷄赤血球의 血球凝集反應을 일으키며 37°C에서는 Elution 現象을 나타냈음에 反하여 같은 鷄胎兒尿膜腔液에 의한 단닌酸處理鷄赤血球의 凝集은 37°C에서 아무런 變化도 보이지 않고 37°C定溫槽에 넣기前의 그대로의 狀態였음은 단닌酸處理赤血球의 血球凝集反應에는 Elution 現象이 없음을 나타내는 것으로 본다.

단닌酸處理鷄赤血球를 사용한 HI反應에 있어 그의 結果가 正常鷄赤血球의 그것과 同一하였음은 B<sub>1</sub>病毒感染 鷄胎兒尿膜腔液에 의한 단닌酸處理鷄赤血球의 凝集反應이 B<sub>1</sub>病毒에 의한 特異的反應임을 示唆하는 것으로 보인다. 즉 이 血球凝集反應은 B<sub>1</sub>病毒感染 鷄胎兒尿膜腔液에 含有된 B<sub>1</sub>病毒以外的 어떤 物質에 因한 것이 아니며 뉴캐슬免疫血清에 의하여 特異的으로 中和될수있는 物質 즉 B<sub>1</sub>病毒粒子, B<sub>1</sub>病毒粒子의 血球凝集素 또는 B<sub>1</sub>病毒粒子의 構成成分에 因한 것임을 示唆하는 것으로 보인다.

Myxovirus의 하나인 B<sub>1</sub>뉴캐슬病毒에 의한 단닌酸處

理鷄赤血球의 Elution없는 血球凝集反應이 그의 機轉에 있어 Influenza病毒에 의한 過沃度酸加里處理鷄赤血球의 Elution 없는 血球凝集反應과 類似한 것인지는 더욱 研究를 要하는 바이다.

#### V. 要 約

단닌酸處理된 鷄赤血球는 B<sub>1</sub>病毒感染 鷄胎兒尿膜腔液에 의하여 Elution이 없는 血球凝集反應을 일으켰으며 그의 血球凝集反應은 뉴캐슬免疫血清에 의하여 特異的으로 抑制되었음.

#### 參 考 文 獻

1. Fazekas, de St. Groths: As quoted by Burnet, F.M. in Hewaqqlutination in relation to host cell Virus interation. Ann. Rev. Microbiol., 6, (1952).
2. Hitchner, S. B., Reising, G., and Van Roekel, H. Characteristics of the B<sub>1</sub> Strain of Newcastle disease virus. Am. J. Vet. Res., 12, (1951): 246-249.
3. Cunningham, C. H.: A Laboratory Guide in Virology, 4th ed. Burgess Publishing Co., Minneapolis, 1960.
4. Bukantz, S. C., Rein, C. R., and Kent, J. F.: Studies in complement fixation. II. Preservation of sheep's blood in citrate dextrose mixtures (Modified Alsever's Solution) for use in the complement fixation reaction. J. Lab. Clin. Med., 31, (1946): 394-399.
5. Salk, J. E.: A simplified procedure for titrating hemagglutinating capacity of influenza virus and the corresponding antibody. J. Immunol., 49, (1944): 87-98.

#### 牛부루세라症의 化學療法

妊娠 4~5個月된牛 20頭에 對하여 豫防的으로 Pewdin을 日量5瓦을 投與하고 藥物投與 開始 14日 後에 Br. adrcrtus를 1千萬개를 結膜에 接種하였던바 20頭中 16頭의 發症을 豫防할수있었다. 流産을 갖어온 2例의

凝集反應은 陽性이었다. 正常分娩한 16頭에서는 血液乳, 胎盤에서 Br. abortus를 認定치못하였고 血清學的으로도 陰性이었다.

(Meyn. A. etal, Dtsch fleravztl. Wschr. 68. 429 1961—Vet. Bull. 32. 139.