

## Leptospira(Korea)의 병원성 및 leptospirosis 환자 조직과의 특이성

이봉기 · 유주현\* · 이태윤 · 박전한 · 이원영 · 김주덕

연세대학교 의과대학 미생물학교실, 공과대학 식품공학과\*

## Animal Pathogenesis and Specificities of Leptospira (Korea) with Autopsied Human Tissue

Lee, Bong Ki, Ju Hyun Yu,\* Tae Yoon Lee, Jeon Han Park,  
Won Young Lee, Joo Deuk Kim

Department of Microbiology College of Medicine: Department of Food Engineering,  
College of Engineering: Yonsei University

Leptospira isolated from patients and natural paddy water were further studied to confirm their serologic specificity with the bacteria in infected animal tissue and autopsied tissue of patients died with leptospirosis. And pathologic patterns of the inoculated animal and the virulence of the bacteria in the animals were also studied. The findings are summarized as follows; LD<sub>50</sub> dose of the bacteria in guinea-pig were  $1.2 \times 10^9$  cells and mice were found to be susceptible to them even though the degree of susceptibilities were much inferior to guinea pig. The bacteria were recovered from various organs; lung, liver, kidney and urinary bladder, following inoculation (5-10 th days). The infected organs demonstrated massive hemorrhages due to diapedesis and monocyte infiltration were observed, in some cases, intramedullary hemorrhages of the infected kidneys and hematuria were recognized. All of the hyperimmune sera were strongly reacted with the tissues from autopsied human case who died of EPHF (Epidemic Pulmonary Hemorrhagic Fever) in immunofluorescent antibody tests.

유행성 출혈열 폐염양 질환의 임상증상은 초기에 고열, 오한, 전신쇠약감, 근육통, 두통 및 구토를 야기시키며, 뒤이어 기침과 출혈성 객담 및 각혈을 수반하여 호흡곤란을 초래하며 검사상 특징으로 흉부 X-선 침윤 소견과 폐장, 간장, 신장 및 중추신경계에도 이상소견을 나타내는 전신성 질환으로 보고하고 있다(Shim 등, 1980; Han 등, 1976; Kim 등, 1976; Kim 등, 1976; Moon 등, 1976). 이 질환에 대한 본 저자들의 결과(Lee 등, 1984; Lee 등, 1985)에서 환자로 부터 분리한 병원체는 세균

으로서 형태학적, 생물학적 및 혈청학적 특성이 모두 Leptospira와 일치하는 것으로 나타났다. Leptospirosis는 사람을 비롯하여 guinea-pig, hamster 및 rat에 감염이 되며(Jawetz 등, 1984), 또한 swine이나 cattle(Kaufman 및 Martone, 1980)에 질병을 일으킬 수 있는 것으로 비교적 넓은 범위의 감수성 숙주 분포를 나타내고 있다.

따라서 본 연구자들은 유행성 출혈열 폐염양 환자로 부터 분리한 Leptospira로 추정되는 병원체를 동물에 접종하여 병원성 및 병리학적

특성을 조사하고 한편 이 질환에 감염된 것으로 의심되는 환자들의 혈청에서 이 병원체에 대한 특이적 항체를 검사함으로써 분리 균주가 유행성 출혈열의 원인균임과 동시에 *Leptospira* 임을 규명하려는데 그 목적이 있다.

## 실험재료 및 방법

### 균주

실험동물에 대한 감염 및 혈청학적 검사를 위한 항원으로서의 균주는 이미 이전 논문에서 발표했던(Lee 등, 1984; Lee 등, 1985) 유행성 출혈열 폐염양 환자로 부터 분리한 균주를 사용하였다.

### 실험동물

분리균 감염을 위한 실험동물은 guinea pig (몸무게 300g내외), BALB/C 마우스 (몸무게 20g내외) 및 다람쥐(몸무게 200g내외)를 사용하였다.

### 혈청학적 검사

분리균에 대한 혈청학적 검사와 환자의 혈청학적 반응 진단은 시험관내 응집반응(Weir, 1978), 간접면역형광법(Goldman, 1968) 및 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) (Hurrell, 1982)으로 시행하였다. ① 시험관내 응집반응 시험은 실험재료에서 제시한 분리균의 균액( $1 \times 10^8$  cells/ml)과 *Leptospira* 표준 항원액에 50°C에서 30분간 비동화시킨 환자의 항 혈청(1/10 diluted)과 분리균에 대한 특이 가토의 항 혈청(1/10 diluted)을 각각 0.25ml씩 시험관에 넣어 혼합하고, 50°C에서 2시간 반응시킨 다음 원심분리하여 판정하였다.

② 간접면역형광법은 같은 균 부유액 및 *Leptospira* 표준 항원액을 Slide glass에 도말하여 acetone액으로 고정한 다음 환자 및 가토의 항 혈청을 첨가하여 30분간 실온에서 반응시켰다. 0.05M 인산완충액(pH 7.2)으로 3회 반복 세척한 후 Fluorescein isothiocyanate(FITC)가 붙은 goat anti-human IgG 및 IgM(Cooper Biochemical Inc. U. S. A.)과 goat anti-rabbit IgG를 각각 떨어뜨려 실온에서 반응시켰다. 30분후 같은 완충액으로 3회 세척후 건조시켜

Zeiss 형광현미경으로 검경하였다.

③ ELISA 방법은 균 부유액( $1 \times 10^8$  cells/ml)을 French pressure(Fred Carrer Inc. U. S. A.)로 4회 반복 마쇄한 후 10 $\mu$ l씩 ELISA plate(Flow Lab Inc. U. S. A.)에 넣어 말린후 methyl alcohol로 고정하였다. 인산완충액으로 3회 세척한 후 1% bovine serum albumine(Fraction V. sigma)으로 20분간 처리하고 다시 3회 세척하였다. 20 $\mu$ l의 환자 항 혈청(1/10 diluted)을 넣어 30분간 실온에서 반응시킨 후 완충액으로 3회 세척하고 peroxidase가 붙은 goat polyvalent anti-human Ig(1/10 diluted)를 넣어 30분간 반응시켰다. 역시 완충액으로 3회 세척 후 이 효소에 대한 기질을 100 $\mu$ l를 넣어 ELISA reader로 판정하였다.

### 균 독성 및 병리조직학적 검사

동물에 대한 균 독성 실험은 guinea-pig, BALB/C 마우스 및 다람쥐에 마리당 2~4  $\times 10^8$ , 2~4  $\times 10^9$  및 2~4  $\times 10^{10}$ 균수의 균액을 복강내로 접종하여 2개월간 사망되는 동물의 수로서 독성을 판정하였다. 병리조직학적 및 조직내 균 검사는 접종 날짜에 따라 동물을 희생 부검하여 H & E(hematoxylin 및 eosine) 염색으로 조직내 병변을 관찰하였으며 한편 조직을 동결 절편하여 혈청학적 시험에서와 같이 환자 항 혈청 및 균에 대한 특이 가토 항 혈청과 goat의 FITC conjugate anti-human Ig과 anti-rabbit Ig을 이용하여 간접면역형광으로 검경하거나 또는 조직절편을 Fletcher 매지에 심어 균의 배양 여부로서 감염성을 판정하였다.

## 실험결과

### 환자의 혈청학적 검사

유행성 출혈열 폐염양질환 환자 42명에 대한 혈청학적 검사는 이들 환자중에서 동물접종을 통하여 분리한 균주중 BG-5 균주를 항원으로 하여 ELISA 방법으로 혈중내 IgM과 IgG의 역가를 조사하였다. 항체역가 1:40 이상을 양성 반응으로 판정할 때 IgM의 경우는 83.3%(35/42), IgG의 경우는 78.3%(31/42)의 양성 반응을 보였으며 그 역가는 1:40에서 1:2,560 까

지의 큰 편차를 보이였다. 한편 slide 응집시험에서도 ELISA에 의한 IgM, IgG 항체 양성반응과 역가에 대응하는 반응상태를 나타 내었다 (Table 1).

**분리균에 대한 동물의 감염성**

동물에 대한 균주의 감염능을 비교하기 위한 실험으로 5-Fu가 함유된 Fletcher액체 배지에서 3일간 배양한 균(BG-5-R)액을 guinea-pig, 마우스 및 다람쥐(chipmunk) 각각 5마리에 복강으로 접종한 후 2개월간 관찰한 바, guinea-pig의 경우는 마리당  $2 \sim 4 \times 10^8$ ,  $2 \sim 4 \times 10^9$  및  $2 \sim 4 \times 10^{10}$  균수 접종군에서 각각 1마리, 3마리 및 4마리가 사망하여 접종 동물 50%를 죽일 수 있는 LD<sub>50</sub>는  $1 \sim 2 \times 10^9$  균수로 나타났다. 마우스 접종군에서는 그 사망수가 각각 1마리, 1마리 및 2마리로써 LD<sub>50</sub>는  $1 \sim 2 \times 10^{10}$  균수로 LD<sub>50</sub>가 guinea-pig보다 높은 것으로 나

타났으며 다람쥐의 경우는 어느 군에서나 사망한 예는 1예도 없었고 이 균의 감염에 매우 높은 저항성을 보이였다 (Table 2).

**균주의 병원성**

Guinea-pig에 대한 균주의 병원성을 알아보기 위한 실험으로 5-Fu Fletcher 배지에서 3일간 배양된 5-Fu 내성균주 BG-5-R 균액을 마리당  $5 \times 10^9$  균수를 접종한 후 3일, 10일 및 20일에 각각 희생 부검하여 장기, 혈액 및 방광에서 균 배양 및 조직표본으로 병리학적 소견을 관찰하였다. 균 배양검사서 접종후 3일에는 방광내 뇨를 제외한 혈액 및 폐장, 간장, 신장에서 모두 균이 검출되었으며, 접종 10일에는 각 장기 및 혈액 그리고 뇨에서도 균이 검출되었다. 그러나 접종 20일에서는 뇨 및 각 장기에서 계속 균이 검출되었으나 혈액에서는 균이 검출되지 않았다 (Table 3).

**Table 1.** Serum Ab of 42 sera from the epidemic area detected by ELISA and macro-slide agglutination tests

Code No.	ELISA		Macro-slide agglutination	Code No.	ELISA		Macro-slide agglutination
	IgM	IgG			IgM	IgG	
1	40	2,560		22	640	160	NT
2	640	2,560		23	40	0	NT
3	2,560	2,560		24	40	160	NT
4	160	40	#	25	640	0	NT
5	640	0		26	640	2,560	NT
6	2,560	640		27	160	640	NT
7	2,560	0		28	40	160	NT
8	640	0	#	29	40	160	NT
9	0	0	0	30	40	40	NT
10	0	0	0	31	160	0	NT
11	160	640		32	160	640	NT
12	640	40	+	33	40	0	NT
13	640	160	+	34	0	640	NT
14	160	40	+	35	160	0	NT
15	40	40	.	36	160	2,560	NT
16	40	2,560		37	160	160	NT
17	0	0	NT	38	0	2,560	NT
18	40	160	NT	39	0	2,560	NT
19	640	40	NT	40	160	2,560	NT
20	0	160	NT	41	640	160	NT
21	640	0	NT	42	40	640	NT

NT: not tested.

BG-5 strain was used as antigen

(Lee 등, 1984)

**Table 2.** Susceptibility of animals to the bacteria (BG-5-R strain)

Animal	Dose challenged (No. of cells/animal)			
	10 <sup>8</sup>	10 <sup>9</sup>	10 <sup>10</sup>	LD50
Guinea-pig	1/5*	3/5	4/5	2×10 <sup>9</sup>
Mouse	1/5	1/5	2/5	>2×10 <sup>10</sup>
Chipmunk	0/5	0/5	0/5	>2×10 <sup>10</sup>

\* : No. of animal (death/total)

**Table 3.** Culture of bacteria from organs of guinea-pig after inoculation of the bacteria.

Organism	Organ	Times (days) after the bacterial inoculation		
		3	10	20
BG-5-R strain	Blood	+	+	-
	Liver	+	+	+
	Lung	+	+	+
	Kidney	+	+	+
	Urine	-	+	+

+ : cultured      - : not cultured

한편 균 접종 10일째의 병리조직검사에서의 폐장의 경우는 폐포내 심한 출혈 (intraalveolar hemorrhage) 과 다핵백혈구의 침윤 (infiltration) 및 기관지폐염 (bronchopneumonia) 의 양상을 볼 수 있었으며, 간장에서는 Kupffer cell 의 과다증식 (Kupffer cell hyperplasia), 동양구조내 울혈 (sinusoidal congestion), 저산소증 변화 (hypoxic change) 및 국소적 허혈성 괴사 (focal ischemic necrosis) 를 나타내었다. 신장의 경우는 수질내 출혈 (intramedullary hemorrhage) 을 볼 수 있었으며, data 에는 나타나지 않았지만 뇨에서는 많은 적혈구를 관찰할 수 있었고, 균접종 10~15일된 guinea-pig 는 심한 탈모 현상을 나타내었다.

#### 간접면역 형광법에 의한 감염환자 및 동물조직내의 균체검사

원주 기독교병원에서 유행성 출혈열 폐염양 질환으로 사망한 환자 조직에 대한 BG-5-R 균주의 특이 가토 항 혈청과 환자 혈청의 반응을 비교 실험하였다 (Table 4). 환자의 조직과 BG-

**Table 4.** Immunofluorescent staining of organs of patient and guinea-pig infected with the bacteria.

Source	Organ	Human serum (subject 5)	Anti-BG-5 rabbit serum
Human	Lung	+	+
Guinea-pig	Lung	+	+

\* : positive response

5 균주를 감염시킨 guinea-pig 의 조직을 동결 절편하여 acetone 으로 고정한 후 환자 및 BG-5-R 균에 대한 가토 항 혈청으로 반응시킨 다음 FITC goat anti-human 및 anti-rabbit 혈청에 의해 간접면역 형광법으로 조사한 결과, 환자 (subject 5) 항 혈청의 경우 사망환자 및 guinea-pig 폐장에 각각 반응하여 조직내 및 탐식세포내 병원균을 관찰할 수 있었다. BG-5 균주에 대한 가토의 항 혈청 또한 환자의 조직내 병원체와 같은 반응을 보임으로써 환자의 감염균과 본 교실에서 분리한 균은 혈청학적 연관성을 나타내었다.

## 고 찰

이전 논문에서 보고된 바와 같이 (Lee 등, 1984; Lee 등, 1985), 유행성 출혈열 폐염양 환자로 부터 분리한 균주는 환자의 가검물로부터 직접 분리한 것이 아니고 모두 동물 접종에 의해 분리한 것이기 때문에 이 균이 이 질환의 원인균이라고 확정을 내리기에는 약간의 문제점이 있다. 그러나 분리균은 모두 환자의 가검물을 접종한 동물군에서만 검출이 되었고 특히 guinea-pig 의 경우 탈모·현상 내지 사망하는 점으로 보아 거의 원인균임을 암시하였다.

이에 대한 좀더 명확한 입증을 주기위한 시도로써, 유행성 출혈열 폐염양 질환이 발생된 지역의 환자들 항 혈청에 대한 분리균주와의 혈청학적 조사를 한 결과 이 지역 주민 가운데 정상인에 대한 혈청학적 조사를 못하여 환자의 결과와 비교하기는 어렵지만 42명중 39명이 양성 반응을 보이는 것은 지역내 이 질환의 유행성을

암시해주고 있다. 분리균 감염에 대한 동물 감수성 비교에서 guinea-pig는  $2\sim 4 \times 10^8$ ,  $2\sim 4 \times 10^9$ ,  $2\sim 4 \times 10^{10}$  균수 접종군에서 각각 1마리, 3마리 및 4마리가 사망하여  $LD_{50}$ 가  $1\sim 2 \times 10^9$  인데 반하여, 마우스의 경우는 같은 균수의 접종군에서 각각 1마리, 1마리 및 2마리가 사망하여  $LD_{50}$ 가  $1\sim 2 \times 10^{10}$  이상으로 분리균 감염에 대한 감수성으로는 guinea-pig이 더 높은 것으로 나타났다. 한편 다람쥐의 경우는 어느군에서나 사망하는 예는 1예도 없는 것으로 분리균에 대해 높은 저항성을 나타내었다. Jawetz 등 (1984)은 어린 guinea-pig이나 hamster가 *Leptospira*의 감수성 동물이라고 보고하고 있고 여러 연구자들 (Arean, 1962a, 1962b; De Arriage, 1982)의 *Leptospira*의 병원성 연구에서도 guinea-pig이 감수성이 높은 것으로 보고하고 있다. Li 및 Davis (1952)는 Baltimore 서 1643마리의 rat들로 부터 45%의 *Leptospira*를 분리하였고 또한 마우스에서도 분리된다고 보고하였으며 Alexander (1950)는 개에서도 leptospirosis가 흔한 병이라고 하였다. Kaufmann 및 Martone (1980)은 cattle이나 swine인에서도 leptospira가 발견된다고 보고하는 점으로 보아 동물에서의 leptospirosis는 흔한 질병으로 생각할 수 있다. 그러나 실제 leptospira 동물 감염에 있어서 guinea-pig과 hamster에 비해 마우스나 rat는 본 실험의 결과에서와 같이 감수성이 떨어지는 것으로 Adler 및 Faine (1976)은 보고하고 있다. 따라서 이들은 cyclophosphamide를 마우스나 rat에 전 처치하여 면역억제를 시킨 후 leptospira의 감염성을 높일 수가 있었다고 하였다. Guinea-pig에 분리균을 감염시킨 후 날짜에 따라 혈액, 뇨 및 각 장기내의 균증식을 조사한 실험에서 간장, 폐장, 신장에서는 접종 20일 후 계속 균이 검출되나 뇨의 경우는 접종 10일 후부터 균이 검출되고 혈액의 경우 접종 20일 후에는 균이 검출되지 않는 것으

로 나타났다. 이와 같은 결과는 human leptospirosis에서 감염 초기에만 혈액에서 균이 검출되고 병 발생 10~15일 후부터 뇨에서 균이 검출된다는 Tuner (1973)의 결과와 일치하는 것으로 나타났으며, 한편 이를 뒷바침하기 위한 병리조직 검사에서 폐장은 폐포내 심한 출혈과 다핵백혈구의 침윤 및 기관지폐염의 양상을 나타냈으며 간장은 Kupffer cell의 과다증식, 동양구조내 울혈, 저산소증 변화 및 국소성 허혈성 괴사를 나타냈다. 또한 신장은 수질내 출혈을 볼 수 있으며 뇨에서는 많은 적혈구를 관찰할 수 있었다. 이러한 현상은 De Arriage 등 (1982) 및 De Brito (1968)가 guinea-pig에 leptospira를 접종한 결과와 같은 양상이었고 특히 Arean (1962a, 1962b) 및 Tuner (1973)는 Human leptospirosis 사망 환자에서도 동물과 거의 비슷한 병리적 소견을 나타내는 것으로 보고하고 있다.

분리한 균들이 유행성 출혈형 폐염양 질환 원인균임을 더 입증하기 위한 실험으로 원주기독병원에서 임상적 및 병리적 소견으로 (Choi 등, 1984) 유행성 출혈형 폐염양 질환에 의해 사망한 것으로 판정된 환자의 조직과 본 분리균으로 감염시킨 guinea-pig의 조직을 환자의 항혈청으로 간접 면역형광법에 의해 비교 실험한 결과에서 조직 및 조직내 탐식 세포에 존재하는 균체를 양쪽 모두에서 발견할 수 있었다. 한편 분리균에 대한 특이 가토 항혈청으로 검사한 결과에서도 모두 같은 반응에 의해 균체를 발견할 수 있는 점으로 보아 분리균은 유행성 출혈형 폐염양 질환의 원인균임을 간접적으로 입증할 수 있다.

이상과 같은 사실과 또한 이전에 발표한 논문 (Lee 등, 1984; Lee 등, 1985)에서의 이 병원체에 대한 형태적, 생화학적 및 혈청학적 특성을 종합하여 볼때 이 질환은 leptospira에 의한 leptospirosis로 사료된다.

## 적 요

유행성 출혈형 폐염양 환자로 부터 분리한 병원체에 대한 환자 항혈청의 조사와 동물의 감염성 및 이 질환에 의해 사망된 환자의 조직내 균체검사의 결과는 다음과 같다. 1) 분리균에 대한 환자의 항혈청검사에서 42명 중

39명이 항체역가 1:40이상의 양성반응으로 나타났다. 2) 균점중에 대한 동물의 감수성 검사에서 guinea-pig은 LD<sub>50</sub>가  $1 \sim 2 \times 10^8$  균수인데 반하여 mouse에서는 LD<sub>50</sub>가  $1 \sim 2 \times 10^{10}$  균수 이상으로 감수성이 낮고, 다람쥐는 거의 저항성으로 나타났다. 감염동물에서는 균은 5~10일경 간장, 폐장, 신장, 혈액 및 뇨에서 모두 검출되었다. 감염된 장기의 병리적 소견에서 폐장에는 폐포내 심한 출혈과 단핵백혈구의 침윤 및 기관지 폐염을 나타내고, 간장에는 Kupffer cell의 과다증식, 동양구조내 울혈 및 저산소증 변화, 국소적 허혈성 괴사를 볼 수 있고, 신장의 경우는 수질내 출혈과 뇨에서는 많은 균과 적혈구를 관찰할 수 있었다. 3) 균에 대한 특이 가토 항 혈청은 환자의 항 혈청에서의와 같이 간접 면역 형광법에 의해 유행성 출혈열 폐염양 질환으로 사망한 환자의 조직내 감염균과 강하게 반응하였다.

## REFERENCES

- Adler, B., Faine, S., 1976. Susceptibility of mice treated with Cyclophosphamide to lethal infection with leptospira interrogans serovar pomona. *Infect. Immunity.*, **14**: 703-708
- Alexander, A.D., Gleiser, C.A., Malnati, P., Yoder, H., 1957. Observation on the prevalence of leptospirosis in canine population of the United States. *Am. J. Hyg.*, **65**: 43-49
- Arean, V.M., 1962. Studies on the pathogenesis of Leptospirosis. II. A clinicopathologic evaluation of hepatic and renal function in experimental leptospiral infection. *Lab Investigation*, **11**: 273-288
- Arean, V.M., 1962. The pathologic anatomy and pathogenesis of fatal human leptospirosis (Weil's disease). *Am. J. Pathol.*, **40**: 393-423
- Choi, I.J., Kim, T.S., Zin, S.Y., Shin, K.C., Choi, K.H., Shim, Y.H., 1984. A report on one autopsy case indentified as Leptospirosis among epidemic pulmonary hemorrhagic fever patients. *Korean J. Epidemi.*, **6**: 52-53
- Goldman, M., 1968. Fluorescent antibody methods. Academic Press
- Han, W.S., Kim, D.S., 1976. Autopsy and postmortem needle biopsy findings of pneumonitis-like disease. *J. of Korean Med. Assoc.* **19**: 303-306
- Hurrell, J.G.R., 1982. Monoclonal hydridoma antibodies: Techniques and application. CRC Press
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., 1984. Leptospirae in review of Medical Microbiology 16th ed. p268, Lange Medical Publications
- Kim, K.H., Hong, S.J., Lee, H.S., Kang, M.W., Kim, H.Y., Chung, K.W., Chung, H.Y., Chun, C.H., Kim, S.M., Lee, C.M., Kim, J.J., 1976. Clinical pictures of the haemorrhagic pneumonia like disease which occurred epidemically in the central Area of Korea in Autumn, 1975. *J. of Korean Med. Assoc.*, **19**: 274-286
- Lee, W.Y., Lee, B.K., Kim, J.D., Kim, J.S., Kim S.O., 1984. Leptospira interrogans "Korea" isolated from patients with epidemic pulmonary hemorrhagic fever. *Korean J. Epid.*, **6**: 36-46
- Lee, B.K., Yu, J.H., Lee, W.Y., Kim, J.D., 1985. Isolation and bacteriological characteristics of spiral form bacteria from patient with epidemic pulmonary hemorrhagic fever. *Kor. Jour. Microbiol.*, **23**: 167-171
- Li, H.Y., Davis, D., 1952. The prevalence of carriers of leptospira and salmonella in Norway rats in Baltimore. *Am. J. Hyg.*, **56**: 90-96
- Moon, G.J., 1976. The gross and histopathological findings. *J. of Korean Med. Assoc.*, **19**: 307-309
- Shim, Y.H., Shim, B.S., Choe, K.H., Kim, D.S., Shin, K.C., Lee, K.Y., Lee, Y.W., Kim, Y.J., Chin, C.J., 1980. Epidemic pulmonary hemorrhagic fever. 1. Epidemiological and clinical observation. *J. Korean Med. Assoc.*, **23**: 131-144
- Turner, L.H., 1973. Leptospirosis. *Br. Med.*, **1**: 537-540
- Weir, D.M., 1978. Handbook of experimental immunology. Blackwell

(Received Sept. 30, 1985)