

토끼 출혈성 바이러스의 병원성, 적혈구응집성 및 물리화학적 요인에 대한 영향

윤 인 중 · 전 윤 성

서울대학교 수의과대학

(1989. 12. 30 접수)

Pathogenicity, hemagglutinability, and the effect of physicochemical agents on virus of rabbit hemorrhagic disease

In-joong Yoon, Yun-seong Jeon

College of Veterinary Medicine, Seoul National University

(Received Dec 30, 1989)

Abstract: Rabbits were experimentally infected with rabbit hemorrhagic disease virus and the viral pathogenicity, hemagglutinability, and the effect of physicochemical factors were studied.

The experimental results were summarized as follows:

1. Mean rectal temperature of 11 infected rabbits was $40.0 \pm 0.47^\circ\text{C}$ prior to the virus inoculation, and $39.9 \pm 0.75^\circ\text{C}$ after 12hrs., $40.2 \pm 0.65^\circ\text{C}$ after 24hrs., $40.1 \pm 0.77^\circ\text{C}$ after 36hrs, and $40.6 \pm 0.56^\circ\text{C}$ just before the death.
2. Mean death time of infected rabbits was 40.3 ± 22.0 hours and its range was 24 to 93 hours.
3. O, B, AB and A type of human erythrocytes were shown their HA in the order, but rabbit and chicken erythrocytes were not hemagglutinated by the virus.
4. In the hemagglutination, less than 0.25 per cent of a final concentration of erythrocytes and 0.2 per cent of BSA in PBS resulted in the best hemagglutination. Phosphate concentration in a range of 0.01M to 0.10M in PBS was not influenced on the hemagglutination reaction, and its pH 7.0 resulted in a better HA.
5. The hemagglutinating titers, in log 2 scale, of organs and tissues of the virus infected rabbits were 9.3 ± 3.8 (liver), 9.1 ± 3.9 (blood), 6.2 ± 2.6 (spleen) and 5.0 ± 2.5 (kidney).
6. The physicochemical factors such as heating (50°C , 10 min.), trypsin treatment (0.05 per cent, 5 min.), acid treatment (pH 3.0, 20 min.) and ether extraction (3 times) were not affective to the stability of virus and viral HA activities.

Key words: rabbit hemorrhagic virus, pathogenicity, hemagglutination, physicochemical agents.

서 론

토끼의 바이러스성 출혈성 질병(Viral Hemorrhagic Disease)은 1984년 봄에 중국에서 Liu 등¹에 의해 최초로 보고되었다. 그후 Xu 등²과 Cao 등³에 의하여 이

질병의 역학적 일부 특성과 임상증상 그리고 병리 해부학적 소견등이 보고되었다.

Pu 등⁴은 1985년에 원인 바이러스에 의한 사람 O형 적혈구응집반응과 응집억제반응을 보고하여 이 질병의 진단이 가능함을 밝혔다. Gu 등⁵과 Wei 등⁶은 1986년

과 1987년에 각각 감염토끼의 장기조직 불활화 백신을 개발하여 이 질병의 예방이 가능함을 보고하였다.

한국에서는 1985년 가을에 경기도에서 본 질병이 처음으로 발생한 이래 박 등⁷에 의하여 이 질병의 역학적, 임상적, 병리 해부학적 연구를 통하여 이것이 중국에서 보고된 것과 일치하는 것임을 보고하였다. 그 후 이 등⁸은 본 바이러스에 감염된 토끼의 각 장기별 병리학적 소견과 간 조직의 전자현미경적 소견을 보고한 바 있다.

본 연구에서는 토끼 출혈성 바이러스를 토끼에 감염시켜 토끼의 체온변화, 평균치사시간, 적혈구응집반응의 특성과 평균치사시간에 따른 장기별 적혈구 응집가의 분포, 바이러스재료의 물리화학적 처리에 따르는 바이러스의 감염력과 적혈구응집가의 변화 등을 조사하여 바이러스의 기본적인 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

토끼 : 건강한 7개월령의 Newzealand White종의 토끼를 실험전에 채혈하여 본 바이러스에 대한 HI (hemagglutination inhibition) 항체가 음성인 개체만을 암수 구별없이 공시하였다.

바이러스 재료 : 본 질병으로 폐사한 토끼로부터 얻은 간재료를 토끼에 5대 계대후 5대째 폐사한 것의 간을 채취하였다. 이 재료를 Hanks' BSS(Sigma)에 10% (W/V)로 유제하였다. BSS에는 ml당 penicillin G 1,000단위, streptomycin sulfate 0.1mg, getamicin sulfate 0.05mg, amphotericin B 2.5 μ g이 들어있게 하여 사용하였다. 유제는 실온에 30분간 놓아두었다가 3,000r.p.m.으로 30분간 원심, 그 상청액을 여과(0.22 μ m membrane filter, Millipore)하여 -60°C에 보관하면서 바이러스 재료로 사용하였다. 점종재료의 HA (Hemagglutinate)가는 log₂ 10이었고, 집종은 바이러스 재료 2ml를 토끼의 대퇴부에 근육주사하였다.

적혈구 응집 및 응집억제 반응 : 바이러스는 -60°C에 보관하고 있는 것을 사용하였다. 적혈구는 중앙 적십자 혈액원으로부터 O, A, B 및 AB형으로 판정된 각 혈액을 Alsever용액(2.05g glucose, 0.8g sodium citrate, 0.42g NaCl, 0.055g citric acid, 100ml D.W.)과 1:1로 섞은 것을 분양반이 사용하였다. 이 적혈구액을 각각 적정 pH의 PBS용액이나 BSA-PBS용액으로 1,000r.p.m.에서 5분간 2회와 10분간 1회 원심분리 후 다음 10% (V/V)가 되도록 희석한 후 냉장 보관하면서 사용하였다. 희석액으로는 0.01M의 PBS를 사용하였고 거기에 bovine serum albumin(BSA, Sigma)을 첨가한 다음 여과 멸균하여 냉장 보관하면서 사용

하였다.

적혈구 응집반응 : 적혈구 응집반응은 microtiter system으로 실시하였다(Sever).⁹ 즉 96공 microplate(U형, Corning)를 사용하여 pH 7.0의 BSA-PBS용액 0.025ml씩을 분주한 다음 바이러스액 0.025ml를 2배 단계희석하였다. 여기에 0.5% (V/V)의 O형 사람 적혈구액 0.025ml를 가하여 실온에 정치후 대조군의 적혈구가 가라앉은 다음 역가를 판정하였다. 역가는 응집이 일어난 최고 희석배수의 역수를 바이러스의 적혈구 응집가로 하였다.

적혈구 응집억제 반응 : 96공 microplate(U형, Corning)를 사용하여 pH 7.0의 BSA-PBS용액 0.025ml씩을 분주한 다음에 혈청 0.025ml를 2배 단계희석한 후, 바이러스 재료 4HA단위 0.025ml씩을 혼합하여 37°C에서 60분간 반응하였다. 반응이 끝난후 0.5% (V/V)의 적혈구액 0.025ml씩을 가하여 대조군의 적혈구가 가라앉은 다음 항체가를 판정하였다. 대조군은 BSA-PBS에 바이러스 재료를 혼합한 후 적혈구액을 가한 군과 BSA-PBS에 적혈구액만을 가한 2개의 대조군을 두었다.

감염토끼의 장기별 바이러스 분포 조사 : 바이러스를 접종한 토끼의 각 장기별 바이러스 분포를 알아보기 위하여 폐사 즉시 각 장기(뇌, 폐장, 간장, 비장, 장간막 림프절) 및 혈액을 무균적으로 채취하였다. 이 재료들의 각각을 Hanks' BSS(Sigma)에 10% 유제액을 만들어 3,000r.p.m.으로 30분간 원심하여 상청액을 얻었다. 혈액은 응고된 후 원심하여 혈청을 분리하였다. 재료들의 HA가를 측정하여 바이러스의 분포를 조사하였다.

바이러스 재료의 열처리 : 바이러스를 무균적으로 스크류캡 시험관에 1ml씩 분주한 다음 각각을 40, 50, 60, 70 및 80°C로 맞추어진 수조에서 10, 20 및 30분간 처리한 후 냉각시켰다. 이것을 2,500r.p.m.으로 5분간 원심한 후 그 상청액을 얻어 실험에 사용하였다.

바이러스 재료의 트립신 처리 : Trypsin(pH 7.4) (Difco, 1:250)을 CMF-PBS로 0.1%, 0.5% 및 1.0% 용액을 만든 다음, 이것을 1:9의 비율로 바이러스 재료와 섞어 최종 농도가 0.01%, 0.05% 및 0.1%가 되게 하였다. 이것을 37°C수조에서 5, 10 및 20분간 처리후 우혈청(Hyclone)을 10%로 첨가하여 트립신의 작용을 멈추게 한 다음 실험에 사용하였다.

바이러스 재료의 에테르 처리 : 바이러스 재료 5ml를 동량의 diethyl ether(Fluka)와 잘 혼합한 다음, 실온에서 에테르층과 바이러스층이 분리 될때까지 정지한 후 분리된 에테르층을 제거하였다. 이와 같은 조작을

에테르층이 맑게 될때까지 새로운 에테르로 3~4회 반복 실시하였으며 바이리스크액에 남아있는 에테르는 자연 증발시킨 다음 실험에 사용하였다.

바이러스 재료의 산 처리: 바이러스 재료에 0.1N HCl을 서서히 가하여 pH가 각각 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 이 되게 한다음 2,000r.p.m.으로 10분간 원심하여 그 상청액을 얻어 실험에 사용하였다.

물리화학적 처리에 따른 바이러스의 적혈구 응집능과 감염력에 대한 조사: 바이러스 재료를 50°C에서 10분간 열처리 한것, diethyl ether로 3회 반복처리한것, 0.05% trypsin으로 37°C에서 10분간 처리한 것, pH 3.0에서 20분간 산 처리한 각 재료에 대하여 적혈구 응집반응을 실시하여 그 역가를 측정하였으며 아울러 항체가 없는 Newzealand White종 토끼의 대퇴부 근육에 2ml씩을 접종하여 감염력을 시험하였다.

결 과

토끼에 출혈성질병을 일으키는 토끼출혈성 바이러스의 토끼에 대한 병원성에 관련된 사항인 접종 가토의 체온변화, 평균치사시간을 비롯하여 적혈구응집성 그리고 물리화학적 요인에 대한 영향 등을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

바이러스(RHV)접종 토끼의 체온변화와 치사시간: 바이러스를 접종하기 전과 접종후 12, 24, 36시간 그리고 폐사 직전의 각 체온을 직장에서 측정하였다. 접종 전 40.0±0.47°C에서 접종 후 최고 체온은 40.6±0.59°C로서 체온 상승은 뚜렷하지 않았다. 바이러스 접종가토의 평균 치사시간은 40.3±22.0시간이었다 (Table 1).

토끼 출혈성 바이러스(RHV)의 적혈구 응집반응:

Table 2. Types of erythrocytes and effects of BSA on hemagglutination reaction of rabbit hemorrhagic virus

Erythrocytes	log ₂ HA titer of		Time required to HA(min)	PBS or saline	
	BSA supplemented PBS				
O type RBC	0.1% BSA	8.7±0.5	90	no HA	
	0.2% BSA	9.9±0.4	60	no HA	
	0.4% BSA	9.9±0.4	50	no HA	
Human A type RBC	0.2% BSA	7.0±1.3	60	no HA	
	B type RBC	0.2% BSA	9.4±0.6	60	no HA
	AB type RBC	0.2% BSA	9.0±0.7	60	no HA
Chicken RBC	0.2% BSA	no HA	60	no HA	
Rabbit RBC	0.2% BSA	no HA	60	no HA	

Table 1. Rectal temperature and death time of experimentally infected rabbits with rabbit hemorrhagic disease virus

Rabbit number	Rectal temperature (°C)					Death time (hr)
	Prior to injection	12hrs	24hrs	35hrs	Prior to death	
1	40.0	40.6	40.5	39.2	41.1	39
2	39.9	40.2	41.2	—	40.5	31
3	41.0	40.8	41.1	—	41.1	31
4	40.0	39.3	39.8	39.9	40.5	41
5	39.4	39.4	39.2	39.6	40.8	48
6	39.5	40.1	39.5	39.9	40.9	48
7	40.0	40.6	39.7	—	40.0	32
8	40.3	39.9	40.7	—	39.2	30
9	40.3	39.4	40.0	41.4	41.2	53
10	40.2	39.3	39.9	40.5	40.6	49
11	39.4	39.5	40.2	—	40.2	39
Mean ±SD	40.0 ±0.47	39.9 ±0.57	40.2 ±0.65	40.1 ±0.77	40.6 ±0.59	40.1 ±8.41

사람, 닭 및 토끼의 적혈구중 사람 적혈구만이 HA 반응을 성립케하였다(Table 2). 사람의 적혈구인 경우에도 BSA 0.2%가 첨가 되었을때만 O, B, AB 및 A형 순으로 응집이 잘 되었으며, BSA가 첨가되지 않은때는 적혈구의 최종 농도가 0.75% 이상일 때 HA가 가능하였다.

희석액(PBS)의 0.01~0.1M의 범주에서는 인산의 농도가 영향을 주지 않았으며 pH 7.0에서 반응이 좋았다(Table 3).

바이러스(RHV)접종 토끼의 장기 조직별 적혈구 응

Table 3. Effects of molarity and pH of PBS, and BSA supplementation and RBC concentration on hemagglutination of rabbit hemorrhagic virus on human O type erythrocytes

Phosphate buffered saline		RBC final conc (%)	Log ₂ HA titer	
Mole	pH		With BSA	Without BSA
0.01M	6.0, 7.0, 8.0	0.25	10.0	0
	6.0, 7.0, 8.0	0.50	10.0	0
	6.0, 7.0	0.75	8.0	10.0
	8.0	0.75	NT	7.0
0.05M	7.0	0.25	10.0	0
		0.50	NT	0
		0.75	NT	10.0
0.10M	7.0	0.25	10.0	0
		0.50	NT	0
		0.75	NT	10.0

Table 4. Death time and HA titer of rabbits infected with rabbit hemorrhagic virus

Rabbit No.	Death time	Log ₂ HA titer of died rabbit						
		Liver	Blood	Spleen	Kidney	Lung	Brain	Lymph node
1-1	31hrs	13	10	6	6	7	0	0
1-2	24hrs	10	10	7	5	4	5	5
1-3	30hrs	11	13	10	8	7	6	0
1-4	27hrs	12	12	6	4	5	2	0
1-5	27hrs	11	8	6	2	1	2	0
1-6	24hrs	12	12	8	7	6	6	0
2-1	48hrs	7	10	7	6	NT	NT	NT
2-2	61hrs	8	5	7	7	4	NT	NT
2-3	38hrs	9	11	5	5	NT	NT	NT
2-4	93hrs	0	0	0	0	NT	NT	NT
Mean±SD	40.3±22.0	9.3±3.8	9.1±3.9	6.2±2.6	5.0±2.5	4.9±2.1	3.5±2.5	0.8±2.0

집가 : 바이러스를 접종하여 토끼가 폐사한 직후 각 장기와 혈액을 채취하여 HA시험으로 장기별 바이러스의 분포를 알아보았다(Table 4). log₂ HA가는 간장이 9.3±3.8로 가장 높았고 혈액, 비장, 신장, 폐장, 뇌순이었으나 림프절은 극히 낮았다. 93시간만에 폐사한 토끼에서는 HA가 나타나지 않았으나 혈액의 log₂ HI가는 8.0이었다.

토끼 출혈성 바이러스(RHV)의 물리화학적 처리 요인에 대한 영향 : 바이러스 재료를 열 처리와 트립신으로 각각 처리하여 적혈구 응집능과 감염력을 조사하였다(Table 5). Log₂ HA가가 10인 바이러스 재료는 40°C에서 10, 20, 30분간 처리시 처리시간과 관계없이

Log₂ HA가가 9.0으로 낮아졌다. 50, 60, 70°C에서 10분간 처리시의 Log₂ HA가는 각각 8.0, 7.0, 2.0이었다. 50°C에서 20, 30분간 처리시는 log₂ HA가가 모두 7.0이었으며, 60°C에서 20, 30분간 처리하였을 때는 5.0, 3.0의 log₂ HA가를 나타냈다. 50°C에서 10분간 처리 후 원심한 상청액을 접종한 토끼는 48시간만에 폐사하였으며, 폐사 후 분리한 혈청의 log₂ HA가는 10이었다.

Log₂ HA가가 10인 바이러스 재료를 0.01% 트립신으로 5, 10, 20분간 처리 하였을 때는 모두 Log₂ HA가 7.0으로 낮아졌다. 0.05% 트립신으로 5분간 처리시는 8.0으로 되었고, 10, 20분간 처리시는 7.0으로

Table 5. Effects of heating and trypsin treatment on hemagglutinin titer and infectivity of rabbit hemorrhagic virus

Treatments: at or with		Treated time (min)	log ₂ HA titer	Rabbit infectivity	Log ₂ HA titer of infected and recovered virus (material)
Heat treatment	40°C	10, 20, 30	9.0	NT	
	50°C	10	8.0	specific death	10.0(serum)
		20, 30	7.0	NT	
		60°C	10	7.0	NT
	70°C	20	5.0	NT	
		30	3.0	NT	
		10	2.0	NT	
	control	20	NT	NT	
		30	NT	NT	
		10.0	specific death	9.0 (liver)	
Trypsin treatment	0.01%	5, 10, 20	8.0(8.0)*	NT	
	0.05%	5	8.0(8.0)	specific death	11.0(serum)
		10, 20	7.0(7.0)	NT	
	0.1%	5	7.0(8.0)	NT	
		10	7.0(7.0)	NT	
		20	7.0(4.0)	NT	
	control		10.0(8.0)	specific death	9.0 (liver)

()*: heated at 50°C for 10 min prior to trypsin treatment.

HA가 낮아졌다. 0.1% 트립신으로 5, 10, 20분간 처리하였을 때는 HA가 모두 7.0이었다. 50°C에서 10분간 열 처리한 후 0.1% 트립신으로 5분간 처리하는 열 처리없이 트립신 처리한 것보다 HA가 8.0으로 높았으나, 20분간 처리하는 열 처리없이 트립신 처리한 것보다 HA가 낮아 4.0이었다. 0.05% 트립신으로 5분간 처리한 바이러스 재료를 혈청으로 중화한

후 접종한 토끼는 38시간만에 폐사 하였으며 폐사 후 분리한 혈청의 log₂ HA는 11이었다.

바이러스 재료를 산 처리한 것과 에테르 처리한 것의 log₂ HA와 감염력을 조사하였다(Table 6). Log₂ HA가 10인 바이러스 재료를 실온에서 pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.0에 20분간 처리 후의 HA는 모두 10이었다. pH 3.0에서 20분간 작용시킨 재료를 중화한 후

Table 6. Effects of acid and diethyl ether treatments on HA titer and rabbit infectivity of rabbit hemorrhagic virus

Treatments	Treated virus material		Log ₂ HA titer of infected and recovered rabbit (material)	
	Log ₂ HA titer	Rabbit infectivity		
Acid treatment at room temp for 20min	pH 3.0	10.0	died, pi 93hrs	0 (liver serum)
	pH 4.0	10.0	NT	NT
	pH 5.0	10.0	NT	NT
	pH 6.0	10.0	NT	NT
	control	10.0	died, pi 31hrs	9.0 (liver)
Diethyl ether extraction at room temp 3 times		10.0	died, pi 61hrs	8.0 (liver)
	control	10.0	died, pi 31hrs	9.0 (liver)

이를 접종한 토끼는 93시간만에 폐사 하였으며 HA가 는 혈액을 비롯한 어느 장기에도 나타나지 않았다.

Log₂ HA가 10인 바이러스 재료를 diethyl ether 로 실온에서 3회 반복처리 후의 HA가는 변함이 없었다. 이 재료를 접종한 토끼는 61시간만에 폐사 하였으며 폐사 후 간의 log₂ HA가는 8.0이었다.

이 바이러스는 50°C에서 10분간 열 처리, 0.05% 트립신으로 5분간 처리, pH 3.0에서 20분간 산 처리, 에테르 3회 추출에서 안정성이 유지됨을 알 수 있었다.

고 찰

토끼의 바이러스성 출혈성 질병은 1984년 Liu 등¹에 의하여 토끼의 새로운 질병으로 보고되었고, 병인체는 단쇄 RNA 20면체의 대충성 바이러스이며 직경은 28~30nm이고 envelope는 없다고 보고하였다. 1985년 Xu 등²은 본 질병을 토끼의 바이러스성 출혈성 폐렴이라는 잠정명칭으로 보고하였다. 1985년에 Pu 등⁴은 원인 바이러스가 사람 O형 적혈구 응집능을 갖는 Picornavirus 라고 하였다. 1987년의 Wei 등⁶은 바이러스성 출혈성 질병으로 보고하는 등 중국에서는 여러가지 병명으로 계속 보고되고 있다.

국내에서는 박 등⁷(1987)이 토끼의 바이러스성 급사 병이라고도 명명하였고, 바이러스성 출혈열이라고도 부르고 있다. 이와 같이 본 질병의 병명은 국내외를 막론하고 아직 통일되지 않고 있다. 이 연구에서 관찰된 토끼 11수의 인공 감염시험에서 최고 체온이 40.6±0.59°C를 보였는데 이 체온은 토끼의 정상체온의 범주인 38.6~40.1°C(Swenson¹⁰)의 범주에 있다고 보아져 열병이라는 병명은 적당치 않다고 생각한다. 또한 실험기간 동안에 관찰된 병리회부학적 및 조직학적 소견으로는 폐에서도 병변을 관찰할 수 있었으나 특히 간장에서 심한 손상이 관찰되었으며 신장, 비장에도 폐 병변 못지 않은 병변을 나타내었다. 그러므로 바이러스성 출혈성 폐렴이라하여 폐에 국한시킨 병명 역시 타당하지 않다고 생각된다. 또한 병리조직학적 소견에서 각 장기에 심한 출혈 소견이 나타났고 폐사 후 혈액 응고가 잘 안되는 것 등으로 미루어 보아 본 질병을 바이러스성 출혈성 질병이라 명명하는 것이 적절하다고 사료되는 바 본 연구에서는 바이러스성 출혈성 질병으로 하였다.

사람의 자 혈액형 별 적혈구를 비롯하여 닭과 토끼의 적혈구를 사용한 HA반응에서 본 바이러스는 사람의 적혈구 만을 응집하였다. 사람의 O, B 및 AB형 적혈구는 비교적 응집가가 비슷하였으나 A형 적혈구는 다른 혈액형 보다 HA가가 낮았다. B형과 AB형은 O

형 적혈구보다 응집능이 다소 떨어졌으며, 사람 개체에 따른 혈구응집능의 차이가 있었다. 따라서 사람의 O형 혈액이 본 바이러스의 HA반응에 적합하다고 생각된다.

본 바이러스의 HA반응에 영향을 주는 요인을 조사한 결과 희석액(PBS)내 인산 농도 0.01~0.1Mol 범위에서는 영향을 주지 않았다. pH는 7.0이 좋았고, 적혈구의 최종 농도는 0.25%가 좋았다. 그러나 적혈구의 최종 농도가 0.5% 이하가 되면 응집이 일어나지 않으나 거기에 0.2%가 되도록 BSA를 첨가하면 HA가 가능하였다. BSA의 첨가없이 HA반응이 일어나는 적혈구의 최종 농도는 0.75%였다.

본 바이러스를 인공 감염시켜 폐사한 토끼 10수의 각 장기별 바이러스의 분포를 HA반응으로 알아본 결과 비교적 병변이 심한 간장에서 HA가가 log₂ 9.3±3.8로 가장 높았고 다음은 혈액, 비장, 신장, 폐장 및 뇌순으로 나타났다. 한 개체의 장간막 림프절에서 HA가가 log₂ 5였는데 이 림프절은 약간 충혈되어 있었다. 이미 보고된 병리조직학적 소견에서 병변을 나타낸 각 장기에 바이러스가 분포하는 것으로 보아 이 실험 결과는 병리조직학적 소견과 일치함을 알 수 있었다.

바이러스 접종 토끼의 혈액내 바이러스의 출현을 알아보기 위하여 6시간 마다 채혈하여 혈청을 분리한 후 HA가를 측정 하였다. 두 마리의 토끼 A 및 B는 평균 폐사시간인 40시간을 넘어 A는 60시간, B는 66시간만에 폐사하였다. 두 마리 모두 접종 30시간 후에 혈액내 바이러스의 출현을 보여 HA가가 A는 log₂ 8, B는 log₂ 3이었으며, 혈액내의 최고 HA가는 접종 후 48시간에 A는 log₂ 15, B는 log₂ 10을 나타내었다. 그러나 접종 후 54시간에는 HA가가 A는 log₂ 11, B는 log₂ 8로 감소 추세를 보이면서 폐사 후에는 B개체의 신장에서 HA가가 log₂ 3이 나온 것을 제외하고는 A, B개체의 혈액이나 다른 주요 장기에서도 바이러스를 확인할 수 없었다. 이러한 실험 결과는 앞에서 언급한 폐사 시간이 오래 지속된 토끼에서는 생성된 항체 때문에 바이러스의 역가가 오를 수 없다는 설명과 일치하는 것으로 사료된다.

바이러스의 물리화학적 처리 후 적혈구의 응집능과 감염력을 실험한 결과 50°C에서 10분간 열 처리, 0.05% 트립신으로 37°C에서 5분간 처리, pH 3.0에서 20분간 산 처리, 에테르로 3회 추출하여도 열 처리군과 트립신 처리군에서만 HA가가 다소 낮아졌을뿐 감염력에는 변함이 없었다. 그러므로 이 바이러스는 이러한 처리 수준에도 안정한 것으로 판단되었다.

pH 3.0에서 20분간 산 처리한 바이러스 재료를 접종한 토끼는 93시간 만에 폐사 하였고, 이 토끼의 병리해부학적 소견은 본 질병의 소견과 일치 하였으나 혈액이나 어느 주요 장기에서도 바이러스를 확인할 수 없었다. 한편, 폐사한 토끼의 혈청 HI가는 \log_2 8이었다. 따라서 폐사까지의 시간이 오래 지속된 토끼에서는 생성된 항체 때문에 바이러스의 역가가 오를 수 없음을 알게 되었다.

결 론

토끼 출혈성 바이러스를 토끼에 감염시킨 후 토끼체의 변화, 평균치사 시간, 경시적 장기별 적혈구 응집가의 분포와 이 바이러스에 의한 적혈구 응집 반응의 특성, 바이러스 재료의 물리화학적 처리에 따르는 바이러스의 감염력과 적혈구 응집가의 변화 등을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 바이러스를 접종한 11마리 토끼의 체온은 접종 전 $40.0 \pm 0.47^\circ\text{C}$ 이였으며, 접종 후 12시간, 24시간, 36시간에는 각각 39.9 ± 0.57 , 40.2 ± 0.65 , $40.1 \pm 0.77^\circ\text{C}$ 이었고 폐사 직전은 $40.6 \pm 0.59^\circ\text{C}$ 로 뚜렷한 체온 상승을 나타내지 않았다.

2. 바이러스가 토끼를 죽일수 있는 평균치사 시간은 40.3 ± 22.0 시간이었고 그 범주는 24~93시간 이었다.

3. 적혈구 응집반응에 있어서 사람 적혈구는 O형, B형, AB형 그리고 A형의 순으로 반응이 좋았고, 기타 동물(토끼, 닭)의 적혈구는 응집되지 않았다.

4. 적혈구 응집반응에 사용한 적혈구의 최종 희석농도가 0.25%일때는 BSA가 0.2%로 첨가 됨으로써 반응이 가능 하였으며, 희석액(PBS)의 인산 몰농도 $0.01 \sim 0.1\text{M}$ 에는 영향을 받지 않았고 pH 7.0이 좋았다.

5. 바이러스에 감염된 토끼의 조직별 적혈구 응집역가(\log_2)는 간장(9.3 ± 3.8), 혈액(9.1 ± 3.9), 비장(6.2 ± 2.6), 신장(5.0 ± 2.5) 순이었고 뇌와 림프절은 극히 낮았다.

6. 바이러스가 안정성을 유지한 물리화학적 처리 요인과 그 조건은 열 처리 50°C 10분간, 트립신 0.05% 처리 5분간, 산 처리(pH 3.0) 20분간, 에테르 3회 추출 등이었다.

참 고 문 헌

1. Liu SJ, Xue HP, Pu BO, Qian NH. A new viral

disease in rabbits. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine* 1984;16(6):253~255.

2. Xu FN, Shen WP, Liu SJ. Study of pathology of viral haemorrhagic disease in rabbits. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine (Xumu yu shouyi)* 1985;17(4):153~155.
3. Cao SZ, Liu SG, Gan MH, Liu RP, Cai SW, Liu SF. A preliminary report on viral haemorrhagic pneumonia (tentative name) in rabbits. *Chinese Journal of Veterinary Medicine* 1986;12(4):9~11.
4. Pu BQ, Qian NH, Cul SJ. Micro HA and HI tests for the detection of antibody titres to so-called "Haemorrhagic pneumonia" in rabbits. *Chinese Journal of Veterinary Medicine* 1985;11(10):16~17.
5. Gu ZD, Wang XX, Li QX, Sun FF. An inactivated vaccine against haemorrhagic pneumonia in rabbits. *Chinese Journal of Veterinary Medicine* 1988;12(2):50~51.
6. Wei JS, Yu NS, Yang YF, Zhang XS, Long PR, Shen JR. Investigation on a viral haemorrhagic disease in rabbit in Yunnan province. *Chinese Journal of Veterinary Science and Technology* 1987;8:20~24.
7. 박남용, 경치영, 김진호, 조성만, 차연호, 정병탁, 김동성, 윤지병, 박진열, 위성하: 토끼의 바이러스성 출혈성 폐렴(잠정명칭)발생, 대한수의사회지 1987;23(9):603~610.
8. 이차수, 박청규: 양고라 토끼의 급성 폐사성 질병의 병인학적 연구—소위 토끼의 바이러스성 급사병, 대한수의학회지 1987;27:277~290.
9. Sever JL. Application of a microtechnique to viral serological investigations, *J. Immunol* 1962;88:320.
10. Swenson MJ. *Dukes' physiology of domestic animals*. 10th ed., Cornell Univ., Press 1984; p. 720.