

대담식세포를 리용한 돼지페스트약독화완진의 비루스력가와 항체가측정방법

양성일, 려혁, 변영미

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《수의방역사업을 잘하여야 합니다. 축산에서 수의방역사업은 생명과 같습니다.》

(《김정일선집》 증보판 제22권 241페이지)

돼지페스트는 돼지기르기에서 가장 큰 피해를 주는 전염병[6, 7]으로서 이 병을 철저히 예방하려면 완진의 비루스력가와 완진접종한 돼지의 면역수준을 정확히 평가하고 과학적인 접종체제를 세우는것이 중요하다.

돼지페스트의 비루스력가와 항체가를 측정하는 혈청학적방법에는 효소면역측정법과 중화반응이 있[1-3]는데 이런 방법들은 전문적인 설비와 시약, 많은 시간을 필요로 하므로 생산현장에까지 널리 리용되지 못하고있다.

우리는 돼지페스트항체와 비루스와의 결합물을 흰생쥐복강대담식세포를 리용하여 검출하는 방법으로 비루스의 력가와 항체가를 측정하기 위한 연구를 하였다.

재료와 방법

재료로는 돼지페스트약독화완진, 돼지페스트면역혈청, 흰생쥐복강대담식세포를 리용하였다.

방법 폴리스티롤미량응집판에서 검사할 항원(돼지페스트약독화완진)이나 항체(면역혈청)를 생리적소금물로 2배 계열희석하고 10배 희석한 표준항체나 항원을 같은 량 혼합하여 반응시킨다. 방온온도에서 15~20min동안 놓아두었다가 대담식세포부유액을 떨구어 잘 섞는다. 5~10min 지나서 그 한방울을 재물유리우에 떨구어 응집상태를 관찰하며 응집이 나타나면 양성반응으로 평가한다.[4, 5]

대담식세포부유액은 흰생쥐복강으로부터 다음의 방법으로 얻었다.

몸질량이 18g인 흰생쥐의 복강안에 주사기로 염류액 2~3mL를 주입한 다음 손으로 배를 1min간 주물러주고 다시 주사기로 복강안의 액을 뽑아낸다. 이것을 염류액으로 3번 원심세척(2 500~3 000r/min)하고 다시 염류액으로 부유시켜 리용하였다. 부유액의 세포수는 세포계수기(《DeLaval》)로 측정하였다.

응집반응의 력가가 가장 높은 때의 대담식세포수, 반응시간과 온도, 반응이 나타나는 시간, 보관기일에 따르는 자가응집성과 예민도 등을 조사하였다.

결과 및 논의

응집피가 보일수 있는 대담식세포의 수 항원항체반응을 진행하고 각이한 수의 대담식세포가 포함되어있는 부유액과 혼합하여 응집피가 맨눈으로 보일수 있는 대담식세포의 수를 조

사하였는데 그 결과는 표 1과 같다.

표 1에서 보는바와 같이 항원항체반응을 진행한 다음 대탐식세포로 응집현상을 관찰할 때 그 수가 $5 \cdot 10^7$ 세포/mL이상 되어야 응집괴가 나타난다.

항원과 항체반응의 최적온도와 시간 항원과 항체를 반응시킬 때 온도와 시간에 따르는 응집현상의 출현정형을 조사하였는데 그 결과는 표 2와 같다.

표 1. 응집괴가 보일수 있는 대탐식세포의 수

부유액에서 세포수 (세포·mL ⁻¹)	응집괴출현
$1 \cdot 10^7$	—
$5 \cdot 10^7$	+
$1 \cdot 10^8$	+

표 2. 항원과 항체반응의 온도와 시간에 따르는 응집현상출현

온도/°C	시간에 따르는 응집현상출현			
	1min	2min	3min	4min
10	—	—	+	+
20	—	+	+	+
30	+	+	+	+

표 2에서 보는바와 같이 항원과 항체의 반응온도에 따라서 응집현상이 출현하는 시간이 달라졌는데 10°C에서는 3min, 20°C에서는 2min, 30°C에서는 1min 반응시키면 응집현상이 관찰되었다.

반응의 특이성 돼지페스트비루스항원과 돼지페스트고도면역혈청을 반응시킨 다음 대탐식세포를 떨구어 응집현상의 특이성을 조사하였는데 그 결과는 표 3과 같다.

표 3. 대탐식세포응집반응의 특이성

항원(ワクチン)	돼지페스트고도면역혈청
돼지페스트	+
구제역	—
번식호흡증후군	—
가짜미친개병	—

표 3에서 보는바와 같이 돼지페스트고도면역혈청은 돼지페스트비루스와만 반응하였으며 이로부터 특이성이 보장된다고 볼수 있다.

대탐식세포의 응집을 리용한 돼지페스트약독화ワクチンを 폴리스티롤미량응집판에서 2배 계열희석하고 돼지페스트고도면역혈청과 반응시킨 다음 대탐식세포를 첨가하였을 때 응집현상의 출현을 보고 반응의 예민도를 조사하였는데 그 결과는 표 4와 같다.

표 4에서 보는바와 같이 대탐식세포응집반응을 리용하여 돼지페스트약독화ワクチンの 예민도를 측정하고 겔내확산침강반응과 비교하였는데ワクチン생산계열에 따라서 비루스의 력가는 차이가 있었다. 침강반응과 비교할 때 비루스력가측정예민도는 훨씬 높았다.

표 4. 대탐식세포응집반응에 의한 돼지페스트비루스력가(log₂)측정

돼지페스트약독화 ワクチン生産계열	대탐식세포 응집반응	겔내확산 침강반응
1	10.4±0.3	3.5±0.1
2	8.7±0.2	2.8±0.1
3	9.6±0.2	3.0±0.1
4	11.6±0.3	4.1±0.1

대탐식세포응집반응에 의한 돼지페스트면역도측정 돼지페스트약독화ワクチンを 접종한 돼지의 면역도를 대탐식세포응집반응으로 측정하였는데 그 결과는 표 5와 같다.

표 5에서 보는바와 같이 돼지페스트ワクチン을 접종한 돼지에서 면역도는 개체마다 차이가 있었다. 이것은 같은 생산계열의ワクチンを 접종하였다 하더라도 면역상태가 개체에 따라 다르므로 면역도가 달라진다는것을 보여준다. 따라서 실천에서는 개체별에 따르는 면역수준을 정확히 평가하여 한계면역도에 도달하지 못하는 개체들에 한해서는 재접종을 하여야 한다.

보관조건에 따르는 대탐식세포의 자가응집성 대탐식세포를 생리적소금물에 부유시키고 각 이한 온도조건에 보관하면서 보관기일에 따르는 자가응집성을 조사하였다.(표 6)

표 5. 대담식세포응집반응에 의한
돼지페스트면역도측정

돼지 번호	나이 /d나이	항원의 희석 배수/배	면역도(log ₂)
1	90	10	7
2	90	10	6
3	90	10	8
4	90	10	9

표 6. 보관조건에 따르는 대담식세포의
자가응집성변화

보관온도 /°C	보관기간/개월		
	1	2	3
4~8	—	—	—
18~20	—	—	+
28~30	—	+	+

표 6에서 보는바와 같이 온도가 높을수록 자가응집이 일어나는 기간이 빨라졌는데 4~8°C에서는 3개월까지, 18~20°C에서는 2개월까지 자가응집이 일어나지 않았다. 이로부터 수집한 대담식세포를 18~20°C 조건에서는 2개월정도, 4~8°C 조건에서는 3개월까지 비루스의 력가측정에 리용할수 있다고 본다.

맺 는 말

1) 항원항체반응후 대담식세포를 리용하여 응집현상을 관찰하려면 그 수는 $5 \cdot 10^7$ 세포/mL 이상되어야 육안적으로 응집괴가 보인다. 항원과 항체를 반응시킬 때 10°C에서는 3min, 20°C에서는 2min, 30°C에서는 1min 반응시키면 응집현상이 관찰된다.

2) 대담식세포의 응집성을 리용하여 돼지페스트약독화ワク신의 예민도를 측정 한데 의하면ワク편생산제렬에 따라서 비루스의 력가는 차이났으나 겔내확산침강반응에 비하여 비루스력가측정예민도는 훨씬 높았다. 돼지페스트ワク편을 접종한 돼지의 면역도는 개체마다 차이가 있었다.

참 고 문 헌

- [1] 김명식; 집집승전염병학, 고등교육도서출판사, 255~260, 주체102(2013).
- [2] F. A. Murphy et al.; Veterinary Virology, Academic Press, 221~238, 1999.
- [3] P. P. Pastoret et al.; Veterinary Vaccinology, Elsevier Science, 436~448, 1997.
- [4] Bidjeh Kebkiba et al.; Animal and Veterinary Sciences, 3, 6, 4, 2015.
- [5] Patricia Koenig et al.; Veterinary Microbiology, 120, 3, 9, 2007.
- [6] S. Karsten et al.; Veterinary Microbiology, 108, 3, 199, 2005.
- [7] S. Suradhat et al.; Veterinary Microbiology, 119, 2, 1, 2007.

주체106(2017)년 4월 5일 원고접수

Measurable Method of Viral Titer and Antibody Titer of the Swine Fever Attenuated Vaccine using the Macrophage

Yang Song Il, Ryo Hyok and Pyon Yong Mi

We established method for measuring the viral titer and antibody titer of the immune serum by way of observation the agglutination of the macrophage when the mouse peritoneal cavity macrophage is added to the compound of swine fever immune serum and virus.

Key words: macrophage, swine fever, agglutination, antigen-antibody compound