

## 자연감염된 닭으로부터 chicken anemia agent(virus)의 분리

성 환 우 · 김 선 중  
서울대학교 수의과대학  
(1991. 9. 10 접수)

### Isolation of chicken anemia agent(virus) from naturally infected chickens

Hwan-woo Seong, Sun-joong Kim  
College of Veterinary Medicine, Seoul National University  
(Received Aug 10, 1991)

**Abstract:** Attempts to isolate chicken anemia agent (CAA) were made by inoculating tissue homogenates into MDCC-MSB1 or LSCC-1104B1 cell lines and passaging the cells serially. CAA was isolated from the liver and thymus of 11 weeks old layer chickens and from the liver of 10 weeks old broiler breeder chickens. The layer flock experienced approximately 45% mortality during 9 to 14 week of age from gangrenous dermatitis and lymphoid organs of affected chickens were severely atrophied. The broiler breeder flock experienced approximately 7% mortality during 7 to 9 weeks of age and affected birds showed lesions of colibacillosis, staphylococcal arthritis, and coccidiosis together with atrophied lymphoid organs. The isolated viruses were identified as CAA by the indirect fluorescent antibody test and virus neutralization test using CAA immune sera including one to Gifu-1 strain of CAA. The CAA isolate 89-69, when inoculated into susceptible 1 day old SPF chicks, induced anemia 14 to 16 days after inoculation. It did not induce any cytopathic effects in chicken embryo liver and chicken embryo fibroblast cell cultures. Infectivity of the isolate was not affected by the treatment of chloroform or heat (70°C for 15 minutes).

**Key words:** Chicken anemia agent, blue wing disease, anemia, MDCC-MSB1, LSCC-1104B1.

### 서 론

Chicken anemia agent(CAA)는 감수성이 있는 닭에서 빈혈과 흉선 및 Fabricius낭 등 면역기관의 위축을 일으키는 바이러스로서 1979년 Yuasa et al<sup>1</sup>에 의하여 일본에서 최초로 분리되었다. 이 병원체에 관한 초기 연구는 닭에 접종하는 방법 외에 *in vitro* 배양수단이 없어 제약을 받았으나 Marek병 림프종 유래 세포주인 MDCC-MSB1<sup>2</sup>(이후 MSB1이라 함)을 비롯한 몇 가지 닭 림프세포주에서 증식됨이 보고된 이래<sup>3</sup> 병원체 분리 또는 혈청학적인 방법에 의하여 독일<sup>4</sup>, 스웨덴<sup>5,6</sup>, 영국<sup>7</sup>, 미국<sup>8-10</sup> 등 국가의 야외계군에서 광범위하게 감염이 이루어지고 있음이 밝혀졌으며 일부 SPF

계군들도<sup>11,12</sup> 감염되어 있는 것으로 보고되고 있다.

CAA는 卵繼代傳染도 가능하며<sup>13</sup> 발병양상은 스웨덴·독일을 비롯한 유럽 여러나라의 경우 특정한 종계군에서 유래된 브로일러에서 주로 2~6주령 사이에 발병하며 빈혈과 더불어 괴저성 피부염 증상을 보인다. 폐사율은 1~60%로 다양하며 특히 날개 부위에 출혈이 뚜렷하기 때문에 blue wing discase(BWD)라고도 부르고 있다.<sup>14-16</sup> 일본의 경우 Yuasa et al<sup>17</sup>은 골수 발육부전을 보인 6~12주령 닭에서 높은 빈도로(70%) CAA를 분리하였으며 Goryo et al<sup>18</sup>은 6~9주령 사이에 심한 빈혈과 면역기관 위축 등의 병증을 보이며 높은 폐사율을 경험한 산란계군으로부터 CAA를, 그리고 Otaki et al<sup>19</sup>은 Marek병 백신을 접종한 60일령과

120일령의 산란계군에서 마미증상 등 특징적인 Marek 병 병증으로 자기 6%와 14%의 폐사율을 보인 계군으로부터 Marek병 바이러스와 CAA를 분리한 바 있다.

CAA는 pH 3.0, chloroform 등 지방용매, 60°C에서 30분간의 열처리 등에 대하여 감염능력이 소실되지 않으며 CsCl density gradient에서의 density는 1.33~1.36g/ml이며 직경이 19.1~23.5nm인 구형의 바이러스로서 1분쇄환상 DNA 구조를 가짐으로서 지금까지 알려진 어떤 바이러스 family에도 속하지 않는 새로운 바이러스로 알려지고 있다.<sup>15,8,18,20,21</sup>

본 연구에서는 자연감염된 닭으로부터 CAA를 분리 동정하고자 시도하였다.

### 재료 및 방법

**병아리** : 농촌진흥청 가축위생연구소로부터 공급받은 SPF 종란을 실험실에서 부화한후 시험구별로 별도의 flexible film isolator<sup>22</sup>에 사용하면서 실험하였다.

**세포배양** : CAA의 분리 및 배양에 사용된 MSB1 세포주<sup>2</sup>는 네덜란드의 Poultry Health Institute에서 그리고 LSCC-1104B1 세포주<sup>23</sup>는 농촌진흥청 가축위생연구소에서 분양받아 사용하였다. 세포배양은 kanamycin (100µg/ml), streptomycin sulfate(100µg/ml), potassium penicillin(100IU/ml) 및 비동화 우테아 혈청 (5%)을 첨가한 RPMI 1640배지(GIBCO, U.S.A)에 세포농도가  $2 \times 10^5$ /ml 되게 하여 24 well-cluster-plate (Linbro, Flow Lab., Virginia, U.S.A)에 1ml씩 분주하여 습도와 5% CO<sub>2</sub> 분압이 유지되는 39°C 배양기에서 배양하였다. 계대배양은 2~3일 마다 새로운 배지 1ml에 배양세포 부유액 0.2ml를 혼합배양하는 방법으로 실시하였다. Stock 바이러스 생산을 위한 증폭배양에는 세포농도를  $5 \times 10^4$ /ml 되게하였다. Chicken embryo fibroblast(CEF) 및 chicken embryo liver (CEL) 세포배양은 기 보고된 방법<sup>24</sup>에 따라 실시하였다.

**CAA 바이러스** : 병아리에서 16번 계대되고 MSB1 세포에 28번 계대된 CAA Gifu-1 strain을 Yuasa(Poultry Disease Laboratory, National Institute of Animal Health, Gifu, Japan)씨로부터 분양받아 MSB1 세포에 1회 배양한 후 사용하였다.

**CAA 면역혈청 및 음성혈청** : CAA Gifu-1 바이러스에 대한 닭 면역혈청은 N. Yuasa씨로부터, 그리고 SPF 닭혈청으로 CAA에 대한 항체 양성인 혈청은 D.Gaudry (Rhone Merieux, France)씨로부터 공급받았다. 본 연구에서 분리한 89-69 바이러스에 대한 면역혈청은 5주령의 SPF 닭에 분리주 89-69 감염 병아리의 간 유

제액 ( $\geq 5 \times 10^7$ TCID<sub>50</sub>/0.1ml) 0.1ml를 근육 접종하고 2주후에 0.2ml를 계집종하여 3주뒤 전제인하여 생산하였다.

CAA에 대한 음성혈청은 CAA에 감수성이 있는 1일령의 SPF 병아리로부터 받은 혈청을 사용하였다.

**CAA 분리 및 배양세포에서의 감염역가 측정** : CAA 감염증으로 의심되는 병계의 간장과 흉선계료를 무균적으로 채취하여 항생제를 첨가한 RPMI 1640배지에 20%(w/v) 장기유체액을 만들어 1,500rpm에서 10분간 원심분리한뒤 그 상층액을 바이러스 분리계로 사용하였으며 상층액 0.1ml을  $2 \times 10^5$ /ml세포농도의 MSB1 혹은 LSCC-1104B1 세포 1ml에 접종하여 2~3일 마다 새로운 배지 1ml에 배양세포 부유액 0.2ml를 혼합배양하는 방법으로 계대배양을 실시하였다. 바이러스 유무는 간접형광항체반응(IFA)에 의하여 CAA Gifu-1 면역혈청과 특이적인 반응을 나타내고 세포변성(CPE)의 출현으로 세포계대가 중단되는 것을 기준으로 하였다.<sup>3</sup>

MSB1 세포에서의 CAA 감염역가 측정은 10진 희석한 바이러스를 각 희석배수당 2 well씩 접종한 후 위와 같이 계대 배양하면서 감염역가를 측정하였다.

**간접 형광항체 반응** : 분리주 89-69와 CAA Gifu-1을 각각  $2 \times 10^5$ /ml 세포농도의 MSB1세포에 1/10양으로 접종하고 48시간뒤 채집하여 1,000rpm에서 5분간 원심분리하여 침전된 세포를 PBS(0.1M, pH 7.2)로 두번 세척하였다. 세척 침전된 세포를 PBS로 재부유한뒤 slide glass위에 도말한 다음 건조하고 4°C acetone으로 15분 고정한 후 -20°C에 보관하면서 사용하였다.

반응은 1차 혈청으로 37°C에서 1시간 반응시킨 후 자석교반기를 이용하여 PBS로 10분 세척하고 직접희석한 rabbit anti-chicken IgG-FITC conjugate(Cappel Worthington, Cooperbiomedical, PA, U.S.A)로 위와 같이 반응 세척후 buffered glycerol(1 volume의 0.5M carbonate buffer와 9 volume의 glycerin)로 봉입한 후 형광현미경으로 관찰하였다.<sup>7</sup> 혈청의 형광항체 반응역가 측정은 PBS에 1 : 10부터 2진 희석하여 실시하였다.

**바이러스 증화시험** : MSB1에 분리주 89-69와 12 fluorescent antibody(FA) units되게 희석한 Gifu-1 면역혈청, 96 FA units되게 희석한 CAA 양성인 SPF혈청, 또는 PBS와 동량으로 섞고 37°C에서 1시간 반응시킨후 각각 1일령의 SPF 병아리에 0.1ml씩 근육 접종하고 무접종 대조군과 더불어 14일후 hematocrit치를 측정하였다. Hematocrit치가 27% 이하인 경우 빈혈이 있는 것으로 간주하였다.

**물리화학적 특성조사** : 열에 대한 안정성은 MSB1 세

포에 증폭배양한 분리주 89-69를 70°C 항온수조에서 15분 처리하였으며 클로로포름에 대한 안정성은 동량의 클로로포름을 가하여 간헐적으로 흔들면서 15분 처리한후 원심분리한 상층액을<sup>18</sup> MSB1세포에 접종, 감염역가를 측정하였다. 병아리에서는 분리주 89-69 감염 병아리의 간 유제액( $\geq 5 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub>/0.1ml)과 이를 70°C 항온 수조에서 15분 열처리한 재료를 1일령의 SPF 병아리에 0.1ml씩 근육 접종하고 16일후 hematocrit치를 측정하여 감염여부를 판정하였다.

기타 바이러스의 분리 동정 및 혈청반응 : Reovirus의 분리 동정은 **김과 徐<sup>21</sup>**의 방법에 의거하였으며 reticuloendotheliosis virus(REV)의 분리 동정은 CEF 배양세포에 배양 한후 REV T주 면역혈청을 사용한 IFA 반응으로 실시하였다.<sup>25</sup> Infectious bursal disease virus (IBDV)에 대한 중화항체가 측정은 **Kim과 Seo<sup>26</sup>**의 방법에 따랐으며 avian leukosis virus 항원 검출은 항원 검출용 kit(LLAG test kit, IDEXX Corp., U.S.A)를 사용, 간접 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 방법으로 실시하였다.<sup>27</sup>

## 결 과

### 1. 자연감염 사례에서의 발병양상

#### 1) 사례 89-69

케이지에 사육되는 11,000수의 백색 산란계군으로 62일령부터 100일령까지 주로 괴저성 피부염으로 약 5,000수(45%)가 폐사하였다. 68일령때 진단 의뢰된 폐사계 7수의 부검소견은 모든 개체에서 괴저성 피부염과 깃털이 있는 피부에 제두소견과는 전혀 다른 노란색의 얇은 가피를 볼 수 있었으며 흉선과 Fabricius 낭은 심하게 위축되어 있었다. 2수에서는 괴저에 장액혈액성의 삼출물이 차있었으며 1수에서는 선위에서의 출혈소견도 관찰되었다. 가피가 형성된 피부재료로부터 reticuloendotheliosis virus(REV)가, 그리고 출혈소견을 보였던 선위로 부터는 reovirus가 분리되었다.

#### 2) 사례 90-105

평사되고 있는 22,000수의 육용종계군으로 의뢰당시 68일령이었다. 7주령부터 폐사수가 증가하기 시작하여 9주령까지 약 1,500수(7%)가 폐사하였다. 의뢰된 병계의 부검소견은 대부분에서 아주 심한 흉선의 위축이 관찰되었으며 대장균증과 포도상구균성 관절염의 소견이 있었다. 또한 일부에서는 록시듬증도 확인되었다. 혈청학적으로는 27마리중 19마리에서 CAA에 대한 항체가 양성으로 검출 되었으며( $\geq 1:500$ ) IBD에 대해서도 26마리중 13마리가 1:625 이상의 중화항체가를 가지고 있었다.

### 2. CAA의 분리

사례 89-69에서 채취한 흉선 및 간장 유제액을 LSCC-1104B1 세포에 접종한 결과 2번째 계대후 흉선재료를 접종한 세포에서는 대조세포보다 세포수가 다소 적으며 세포크기도 다양하였으나 7대까지 계대배양이 가능하였다. 간장재료를 접종한 세포에서는 세포의 수나 형태에 변화가 없이 계대배양이 되었다. LSCC-1104B1 세포에서 7대까지 계대 배양한 재료를 56°C에서 30분 처리한 다음 MSB1세포에 접종한 결과 흉선재료를 접종한 세포에서는 2번째 계대배양뒤 종창된 세포가 관찰되었으며 3번째계대 배양때는 세포의 증식이 일어나지 않았다. 이 배양액을 채취, 원심분리하여 상층액을 새로운 MSB1 세포에 접종한 후 계대배양한 결과 2대계대후 역시 같은 양상의 세포변화가 나타나고 세포 계대배양도 중지되었다(Fig 1). 간장유제액을 7대까지 LSCC-1104B1에 계대한 재료를 56°C에서 30분 처리후 접종한 MSB1세포에서도 4번째 계대배양후 세포수가 대조 배양세포수에 비해 감소하였으며 6번째 계대배양후에는 더이상 계대배양이 불가능하였다.

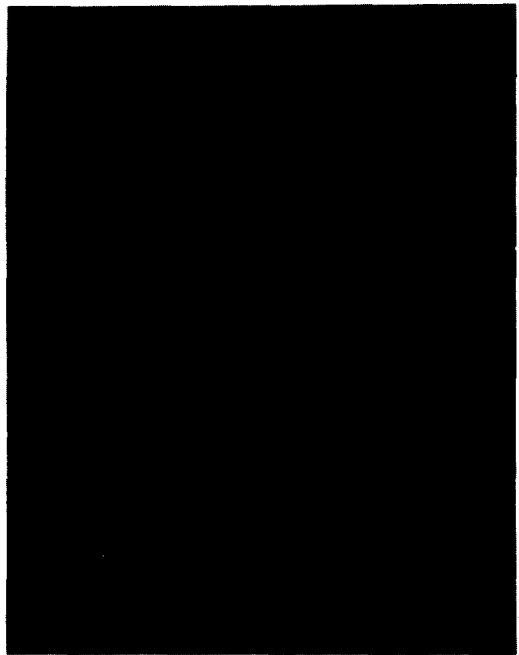
CAA Gifu-1주 면역혈청을 사용한 IFA 반응에서 이들 감염세포들은 핵내에 특이한 형광을 나타냈으며(Fig 2) CAA Gifu-1주를 감염시킨 MSB-1 세포를 분리주 89-69 면역혈청으로 반응시켰을때도 동일한 반응을 관찰할 수 있었다. 면역혈청의 IFA 반응역가는 CAA Gifu-1주와 분리주 89-69간에 차이가 없었으며 Gifu-1주 면역혈청의 역가는 1:320 이었으며 분리주 89-69 면역혈청은 1:2,560이었다. 이들 면역혈청과 음성혈청은 자기 무감염 MSB-1 세포와 CAA 감염 MSB-1 세포에 대해서 1:10에서도 반응하지 않았다.

사례 90-105의 경우 간 유제액을 MSB1 세포에 접종하여 계대중 3번째 계대후 종창된 세포들이 관찰되었으며 이를 IFA 반응으로 조사한 결과 Gifu-1 면역혈청에 특이적인 항원이 검출되었다. 이후 5번째 계대시에서 계대도 중지되었다.

한편, 분리주 89~69 감염 MSB1 세포 배양액은 ELISA 시험에 의한 avian leukosis virus 항원검출시험에서 음성의 결과를 보였으며 REV T주 면역혈청을 사용한 IFA 반응에서도 음성반응을 보였다. 또한 이들 재료를 CEL 및 CEF 배양세포에 접종하고 3~4일 간격으로 3대까지 계대배양하였으나 CPE를 관찰할 수 없었다.

### 3. 바이러스 중화시험

CAA분리주 89-69를 96 FA units되게 희석한 CAA 항체 양성 SPF 현청 또는 12 FA units되게 희석한 Gifu-1 면역혈청으로 중화처리한 후 접종하였을때 96



**Fig 1.** Cytopathic effects of CAA isolate 89-69 in MDCC-MSB1 cells.  
a-infected, b-uninfected.



**Fig 2.** Immunofluorescent staining of CAA 89-69 antigen in infected MDCC-MSB1 cells.

FA units로 처리한 경우에는 완전한 바이러스 증화가 이루어졌으나 12FA unit로 처리한 후 접종한군에서는 일부 개체에서 빈혈이 관찰되어 완전한 증화가 이루어지지 않은 것으로 나타났다. 그러나 PBS로 처리하여 접종한 군에 비하여 빈혈출현 빈도는 낮았으며 평균 hematocrit치도 높게 나타났다(Table 1).

#### 4. 클로로포름 및 열처리에 대한 분리주의 안정성

분리주 89-69를 70°C에서 15분간 열처리한 재료와 50% 클로로포름으로 15분간 처리한 재료는 MSB1 세포주에서 각각 10<sup>5.0</sup>/0.1ml, 10<sup>7.0</sup>/0.1ml의 감염역가로서 그 감염능이 소실되지 않았다. 또한 열처리한 재료를 병아리에 접종한 실험군은 처리하지 않은 재료로

**Table 1.** Neutralization test of CAA isolate 89-69 with anti-CAA sera

Antibody units used in neutralization of CAA <sup>1)</sup>	Anemia <sup>4)</sup>	Hematocrit(%) (Mean±S.D)
96 <sup>2)</sup>	0/8	32.3±1.8
12 <sup>3)</sup>	2/6	26.0±6.4
0	4/9	26.0±5.8
Uninoculated	0/7	32.7±1.3

1) Fluorescent antibody units.

2) CAA antibody positive SPF chicken serum.

3) Anti-CAA Gifu-1 serum.

4) Examined at 14 days post inoculation. No. of chickens with a hematocrit value of less than 28%/No. examined.

접종한 실험군과 마찬가지로 심한 빈혈증상이 관찰되었다(Table 2).

## 고 찰

본 연구에서 CAA가 분리된 병례 89-69는 괴저성 피부염, 흉선 및 Fabricius낭의 위축 등의 소견을 보여 유럽 각국에서 발병 보고된 소위 blue wing disease (BWD)<sup>14-16</sup>와 유사한 소견을 보였으나 산란계에서 발병된 병례로 발병주령이 8~15주령 이었다는 점에서 차

**Table 2.** Physico-chemical characteristics of CAA isolate 89-69

Test system	Virus treatment			Uninoculated control
	Untreated	70°C, 15min.	Chloroform	
In MSB1 cells <sup>1)</sup>				
TCID <sub>50</sub> /0.1ml	10 <sup>7.0</sup>	10 <sup>5.0</sup>	10 <sup>7.0</sup>	
In chickens <sup>2)</sup>				
Anemia <sup>3)</sup>	8/8	6/6	NT	0/7
Hematocrit(%) (mean±S.D.)	15.3±4.8	14.8±7.0	NT	30.7±2.1

- 1) Virus material was the 19th passage culture fluid in MSB1 cells after two passages in chickens.
- 2) Virus material was a liver homogenate from an infected chicken. One day old chickens were inoculated intramuscularly and examined 16 days post inoculation.
- 3) No. of chickens with a hematocrit value of less than 28%/No. examined. NT: not tested.

이를 보이고 있다. 또한 이 병례로부터는 CAA 이외에 REV와 reovirus가 분리되었다. Engström et al<sup>6</sup>은 BWD 사례로부터 분리된 CAA와 reovirus의 감염시험에서 이들 둘의 혼합감염이 CAA 단독감염보다는 야외에서의 BWD와 더욱 유사하다고 하였는데 본 병례에서도 reovirus가 분리되어 이들의 보고와 유사한 점을 보이고 있다. 그러나 REV 감염도 면역기관의 위축과 더불어 면역억제능력이 강하기 때문에<sup>28-30</sup> 본 병례에서 관찰된 괴저성 피부염과 면역기관의 위축 등이 어떤 원인에 기인된 것이었는지는 정확히 알 수 없었다.

Yuasa et al<sup>31</sup>은 1일령때 IBDV에 감염된 병아리는 4주령때 CAA가 감염되더라도 CAA의 병증이 발현되며 CAA 단독감염보다는 IBDV 혼합감염시 병증은 더욱 심하다고 하였다. 병례 90-105의 경우에는 혈청학적으로 IBDV에 감염되어 있는 것으로 나타나 CAA 감염으로 인한 병증의 심화에 기여하였을 것으로 추측된다.

CAA가 CEF나 CEL 및 닭 신장세포 배양에서 CPE를 나타내지 않음은 여러 연구자들에 의하여 거듭 보고된 바 있으며<sup>1,3,32</sup>, Yuasa(1983)는 7종의 마래병 및 avian leukosis 닭 림프종 유래 세포주중 MDCC-MSB1, MDCC-JP2 및 LSCC-1104B1 세포주에서만 CAA의 증식성이 유지됨을 보고하였다. 또한 이 연구자는 뉴캐슬병 바이러스를 비롯한 11종의 닭 바이러스를 MSB1 세포주에서 4대까지 계대배양하면서 감염능력의 유지여부를 조사한 바 CAA외에 REV와 fowl adenovirus만이 증식성이 유지됨을 보고하였다. 본 연구에서 분리주 89-69에 fowl adenovirus의 오염이 없었음은 CEL 배양세포에서 CPE가 관찰되지 않음으로서 확인 되었으며 REV가 존재하지 않음은 REV 면역현청을 사용한 간접형광항체 시험에서 반응하지 않았

을 뿐만 아니라 점종한 병아리에서 REV감염의 특징인 깃털의 이상(Nakanuke)<sup>33</sup>을 관찰할 수 없었던 점에서도 확인할 수 있었다.

CAA 89-69가 분리된 사례의 피부재료로부터 REV가 분리된 바 있다. 분리된 REV를 본 실험에 사용한 병아리와 같은 SPF 계군에서 유래된 1일령의 병아리에 접종하였을때 접종 2~3주후에 모든 병아리에서 깃털의 이상을 확인할 수 있었다(김등, 미발표 성적). 그러나 CAA 89-69가 분리된 MSB1 세포에서 REV가 검출되지 않은 것은 LSCC-1104B1세포에 계대배양한 재료를 56°C에서 30분간 열처리하여 MSB1세포에 접종하였기 때문에 REV가 제거되었을 것으로 생각된다.

분리주 89-69에 대한 중화시험에서 바이러스를 96 FA units되게 희석한 CAA 양성혈청으로 처리한 재료를 점종한 군에서는 빈혈증상이 나타나지 않아 중화가 인정되었으나 12 FA units되게 희석한 CAA Gifu-1 면역 혈청으로 처리한 재료를 점종한 군에서는 바이러스의 중화가 일어나지 않았거나 불완전하게 중화된 것으로 나타났다. 이러한 결과는 중화시험에 사용한 항체에 비해 바이러스의 양이 너무 많았기 때문인 것으로 추측된다. Yuasa와 Imai<sup>34</sup>는 32~128 FA units 되게 희석한 CAA 면역혈청과 10<sup>5.5</sup>TCID<sub>50</sub>/0.1ml인 CAA와 반응시킨후 MSB1세포에서 중화지수(neutralizing index)를 측정한 결과 중화지수가 2.0~4.0으로 완전한 중화가 일어나지 않음을 보고한 바 있다. Lucio et al<sup>10</sup>은 병아리에 점종하는 방법으로 CAA의 중화지수를 조사한 바 흡수에 창백한 소견이 출현하는 점을 기준으로 하였을 때는 CAA 음성혈청과 양성혈청 간에 중화지수의 차가 1.9 이상이었으나 빈혈소견(hematocrit치 29% 이하)을 기준으로 하였을 때는 0.6에 불과하다고 하였다.

병아리 접종시험에서 같은 유래의 SPF 병아리를 사용하였는데도 빈혈의 정도와 빈도에 차이가 있었다. 즉 증화시험에서는 평균 hematocrit치가 26.0이고 9마리중 4마리에서만 빈혈이 나타난 반면 열처리에 대한 안정성 실험에서는 각각 15.3과 8수 전체에서 빈혈이 나타났다. 이러한 차이는 접종 바이러스의 감염력차이에 기인되는 것이라 생각되며 전자의 실험에서는 세포배양 바이러스를 사용하였으며 후자의 실험에서는 감염 병아리의 간 유체액 바이러스를 사용하였다. McNulty et al<sup>9</sup>는 CAA를 바이러스 양별로 접종하여 빈혈증상을 관찰한 마 수당  $10^{5.75}$ TCID<sub>50</sub> 이상을 접종한 군에서는 전개체에서 빈혈이 관찰되나 수당  $10^{3.3}$ TCID<sub>50</sub> 이하를 접종한 군에서는 극히 일부개체에서만 빈혈이 관찰된다고 하였다.

분리주 89-69는 열처리 또는 클로로포름 처리후에 감염능력을 유지하는 결과를 보여줌으로서 타 연구자들이 분리 보고한 CAA성상과 일치하였다.<sup>1,5,18</sup>

## 결 론

장기 유체액을 MDCC-MSB1 또는 LSCC-1104B1 cell에 제대배양 하는 방법으로 chicken anemia agent (CAA) 분리를 시도하여 괴저성 피부염 등으로 높은 폐사율을 보이는 10주령의 산란계와 대장균증 및 홍선 위축이 심한 10주령의 육용종계군으로부터 각각 CAA를 분리하였다. 간접형광항체반응에서 분리주 89-69와 그 면역혈청은 CAA Gifu-1주 및 그 면역혈청과 특이적인 반응을 보였으며 감수성이 있는 1일령의 SPF 병아리에 근육접종하였을때 접종 14~16일 후 심한 빈혈증상을 일으켰다.

분리주 89-69는 chicken embryo liver 및 chicken embryo fibroblast 배양세포에서 세포변성효과를 나타내지 않았으며 70°C, 15분 열처리와 chloroform 처리에도 그 감염능이 소실되지 않았다.

## 참 고 문 헌

1. Yuasa N, Taniguchi T, Yoshida I. Isolation and some characteristics of an agent inducing anemia in chicks. *Avian Dis* 1979;23:366~385.
2. Akiyama Y, Kato S. Two cell lines from lymphomas of Marek's disease. *Biken J* 1974; 17:105~116.
3. Yuasa N, Propagation and infectivity titration of Gifu-1 strain of chicken anemia agent in a cell line (MDCC-MSB-1) derived from Marek's disease lymphoma. *Natl Inst Anim Health Q* 1983;23:13~20.
4. Von Bülow V, Rudolf R, Fuchs B. Erhöhte Pathogenität des aviären infektiösen Anämie bei Hühnerküken (CAA) bei simultaner Infektion mit Virus der Marekscen Krankheit (MDV), Bursitisvirus (IBDV) oder Reticuloendotheliosevirus (REV). *J Vet Med* 1986;B33:93~116.
5. Engström BE. Blue wing disease of chickens; Isolation of avian reovirus and chicken anemia agent. *Avian Pathol* 1988;17:23~32.
6. Engström BE, Fossum O, Luthman M. Blue wing disease of chickens; Experimental infection with a Swedish isolate of chicken anemia agent and an avian reovirus. *Avian Pathol* 1988;17: 33~50.
7. McNulty MS, Connor TJ, McNeilly F et al. A serological survey of domestic poultry in the United Kingdom for antibody to chicken anemia agent. *Avian Pathol* 1988;17:315~324.
8. Goodwin MA, Brown J, Miller SL et al. Infectious anemia caused by parvovirus-like virus in Georgia broilers. *Avian Dis* 1989;33:438~445.
9. McNulty MS, Connor TJ, McNeilly F et al. Chicken anemia agent in the United States; Isolation of the virus and detection of antibody in broiler breeder flocks. *Avian Dis* 1989;33: 691~694.
10. Lucio B, Schat KA, Shivaprasad HL. Identification of the chicken anemia agent, reproduction of the disease, and serological survey in the Unites States. *Avian Dis* 1990;34:146~153.
11. Yuasa N, Imai K, Tezuka H. Survey of antibody against chicken anemia agent by an indirect immunofluorescent antibody technique in breeder flocks in Japan. *Avian Pathol* 1985;14:521~530.
12. McNulty MS, Connor TJ, McNeilly F. A survey of specific pathogenfree chicken flocks for antibodies to chicken anemia agent, avian nephritis virus and group A rotavirus. *Avian Pathol* 1989;18:215~220.
13. Yuasa N, Yoshida I. Experimental egg transmission of chicken anemia agent. *Natl Inst Anim Health Q* 1983;23:99~100.
14. Engström BE, Luthman M. Blue wing disease of chickens; Signs, pathology and natural tran-

- smision. *Avian Pathol* 1984;13:1~12.
15. Randall CJ, Siller WG, Wallis AS et al. Multiple infections in young broilers. *Vet Rec* 1984;114: 270~271.
  16. Vielitz E, Landgraf H. Anaemia-dermatitis of broilers; Field observations on it's occurrence, transmission and prevention. *Avian Pathol* 1988; 17:113~120.
  17. Yuasa N, Taniguchi T, Goda M et al. Isolation of chicken anemia agent with MDCC-MSB1 cells from chickens in the field. *Natl Inst Anim Health Q* 1983;23:75~77.
  18. Goryo M, Sugimura H, Matsumoto S et al. Isolation of agent inducing chicken anemia. *Avian Pathol* 1985;14:483~496.
  19. Otaki Y, Tajima M, Tamada H et al. Isolation of chicken anemia agent and Marek's disease virus from chickens vaccinated with turkey herpes virus and lesions induced in chicks by inoculating both agent. *Avian Pathol* 1987;16: 291~306.
  20. Goryo M, Suwa T, Matsumoto S et al. Serial propagation and purification of chicken anemia agent in MDCC-MSB1 cell line. *Avian Pathol* 1987;16:149~163.
  21. Todd D, Creelan JL, Mackie DP et al. Purification and biochemical characterization of chicken anemia agent. *J Gen Virol* 1990;71:819~823.
  22. 金善中, 試驗鷄 飼育用 隔離飼育箱의 組立과 適用에 관한 연구. 서울大獸醫大論文集 1986;11:171~178.
  23. Hihara H, Shimizu T, Yamamoto H. Establishment of tumor cell lines cultured from chickens with avian lymphoid leukosis. *Natl Inst Anim Health Q* 1974;14:163~173.
  24. 金善中, 徐鈺洙. 關節炎과 發育不全症을 보이는 닭으로부터 avian reovirus의 分離와 性狀調査. 한국가금학회지, 1985;12:135~143.
  25. Witter RL, Purchase HG, Burgoyne GH. Peripheral nerve lesions similar to those of Marek's disease in chickens inoculated with reticuloendotheliosis virus. *J Natl Cancer Inst* 1970;45: 567~577.
  26. Kim SJ, Seo IS. Studies on infectious bursal disease: I. A field survey on the immune status of commercial breeder chicken flocks. *Seoul Univ J Vet Sci* 1982;7:35~42.
  27. 장경호, 김선중. 닭 전염성 기관지염에 관한 연구: II. 간접 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)에 의한 항체가 측정. 대한수의학회지 1989;29:503~515.
  28. Scofield VL, H.R. Bose Jr. Depression of mitogen response in spleen cells from reticuloendotheliosis virus-infected chickens and their suppressive effect on normal lymphocyte response. *J Immunol* 1978;120:1321~1325.
  29. Rup BJ, Spence JR, Hoelzer JD et al. Immunosuppression induced by avian reticuloendotheliosis virus; Mechanism of induction of the suppressor cell. *J Immunol* 1979;123:1362~1363.
  30. Yoshida I, Sakata M, Fujita K et al. Modification of low virulent Newcastle disease virus infection in chickens infected with reticuloendotheliosis virus. *Natl Inst Anim Health Q* 1981;21:1~6.
  31. Yuasa N, Noguchi T, Furuta K et al. Maternal antibody and it's effect on the susceptibility of chicks to chicken anemia agent. *Avian Dis* 1980; 24:197~201.
  32. Rosenberger JK, Cloud SS. The effects of age, route of exposure, and coinfection with infectious bursal disease virus on the pathogenicity and transmissibility of chicken anemia agent(CAA). *Avian Dis* 1989;33:753~759.
  33. Tagima M, Nunoya T, Otaki Y. Pathogenesis of abnormal feathers in chickens inoculated with reticuloendotheliosis virus. *Avian Dis* 1977;21: 77~89.
  34. Yuasa N, Imai K, Pathogenicity and antigenicity of eleven isolates of chicken anemia agent. *Avian Pathol* 1986;15:639~645.
  35. McNulty MS, Connor TJ, McNeilly F. Influence of virus does on experimental anemia due to chicken anemia agent. *Avian Pathol* 1990;19: 167~171.