

## 생물학적 원료의약품 사용을 위한 꿀벌 봉독의 바이러스 안전성 검증

한상미\* · 우순옥 · 김세건 · 장혜리 · 최홍민 · 문효정

농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부

## Evaluation of Honeybee Viral Safety from the Honeybee (*Apis mellifera* L.) Venom

Sang Mi Han\*, Soon Ok Woo, Se Gun Kim, Hye Ri Jang, Hong Min Choi  
and Hyo Jung Moon

Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Sciences,  
Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

(Received 20 August 2018; Revised 29 September 2018; Accepted 29 September 2018)

### Abstract

Honeybee (*Apis mellifera* L.) venom (BV) is a good candidate for development as a therapeutic modality for the treatment of acne vulgaris. However, BV has been restricted in the development of medical agents because BV has not been registered as an Active Pharmaceutical Ingredient (API). The aim of this study was to evaluate viral safety of BV, as biological origin agents. The viral diseases of honeybees were reported at least 18 virus types. Using RT-PCR we evaluated infected honeybees, BV isolated bee venom sac from virus infected honeybee, and BV collected from honeybees using BV collector for the presence of the seven bee viruses, complete genome sequence including Sacbrood virus (SBV), Black queen cell virus (BQCV), Deformed wing virus (DWV), Chronic bee paralysis virus (CBPV), Acute bee paralysis virus (ABPV), Kashmir bee virus (KBV), and Israeli acute paralysis virus (IAPV). The SBV, BQCV, DWV, CBPV, ABPV, KBV, and IAPV were not detected both BV isolated bee venom sac from virus infected honeybee and BV collected from honeybees using BV collector. According to these results, we have meanwhile observed that BV and BV sac might be safety for bee viruses contamination. We suggest that BV could be used a good candidate for API.

Key words: *Apis mellifera*, Honeybee venom, Bee virus, Active pharmaceutical ingredient, Safety

### 서 론

순수 천연물질이면서 강력한 항균, 항염증 효과를

갖는 봉독은 부작용과 잔류에 대한 위험성이 적어 봉  
침요법으로 오래전부터 관절염, 통풍 등의 질환에 사  
용되어 오고 있다(Kim *et al.*, 2003). 서양종꿀벌(*Apis*

\*Corresponding author. E-mail: sangmih@korea.kr

*mellifera* L.) 일벌의 독인 봉독은 다양한 성분이 복합적으로 구성되어 있으며, 주성분인 멜리틴(Melittin)은 항염증(Piek, 1986; Habermann *et al.*, 1965)과 항균작용(Fennell *et al.*, 1967), 강력한 진통작용(Curcio-Vonlanthen *et al.*, 1997), 면역증강(Rudenko *et al.*, 1996) 등의 역할을 한다고 알려져 있다. 본 연구팀에서는 2005년 봉독채집장치와 채집된 봉독으로부터 이물질을 제거할 수 있는 봉독정제법을 개발하였다. 정제 봉독은 멜리틴 함량이 50~70% 범위로 히스타민을 비롯하여 히알루니다아제, 포스포리파아제 등 꿀벌의 봉독 성분을 온전히 갖고 있는 상태의 봉독이다(한 등, 2007). 정제봉독은 피부주름 억제, 미백 등의 효과는 물론 피부자극 및 안점막자극 시험에서 모두 무독성임이 입증됨에 따라 봉독화장품으로 개발, 판매되고 있다(Han *et al.*, 2012; Han *et al.*, 2013; Han *et al.*, 2015a, b). 최근 봉독이 여드름유발 원인균인 *Propionibacterium acnes*는 물론 피부상재균인 *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* 등에 대한 항균효과 및 항염증 효과가 구명되었으며(Han *et al.*, 2016), 이를 유효성분으로 하는 여드름 치료제는 식품의약품안전처로부터 임상2상 시험을 허가 받은 상태이다.

그러나 아직까지 봉독은 원료의약품으로 등록되어 있지 않아 봉독을 이용한 다양한 의약품 개발이 이루어지지 않고 있는 실정이다. 원료의약품이란 합성, 발효, 추출 등 또는 이들의 조합에 의하여 제조된 물질로 완제의약품의 제조에 사용되는 원료이다. 「원료의약품 등록제도(Drug Master File)」의 도입으로 우리나라에서는 2002년부터 시행되고 있다(식품의약품안전처, 2017). 따라서 새로운 성분을 원료의약품으로 사용하기 위해서는 원료의약품의 개발 및 제조 품질 검사 가이드라인에 따라 식품의약품안전처로부터 허가를 받아야만 한다. 봉독은 원료의약품으로 허가 받기 위해서는 기원물질이 꿀벌로 생물학적 제제로 분류되어 바이러스에 대한 안전성이 확보되어야 한다. 소, 돼지 등의 우제류 동물에 감염될 수 있는 전염성이 매우 높은 구제역 바이러스(Aphthovirus)나 닭과 오리 등 조류에 심각한 폐사를 유발하는 조류인플루엔자(Avian influenza)와 같은 인수공통 바이러스에 대한 우려로 이에 꿀벌이 기원인 봉독에 대해서도 원료의약품으로 사용하기 위해서는 안전성 확보를 위해

바이러스 불활화 공정을 제시하고 있다(농림축산검역본부, 2008; OIE, 2008; 식품의약품안전처, 2017).

꿀벌은 가축으로 분류되어 세균, 진균, 기생충 그리고 바이러스로부터 질병이 유발되며 「가축전염병 예방법」에 따라 관리되고 있다(농림축산식품부, 2017). 세균성 질병인 미국부저병(American Foulbrood)과 유럽부저병(European Foulbrood)은 제3종 가축전염병으로, 바이러스성인 낭충봉아부패병(Sacbrood virus, SBV)은 제2종 가축전염병으로 지정되어 있다. 꿀벌 바이러스는 꿀벌을 숙주로 질병을 일으키는데 지금까지 알려진 꿀벌 바이러스는 18종으로 그 중에서 완전한 genome sequence가 밝혀진 것은 낭충봉아부패병을 유발하는 Sacbrood virus, 검은여왕벌바이러스병(Black queen cell virus, BQCV), 날개불구병(Deformed wing virus, DWV), 만성꿀벌마미증(Chronic bee paralysis virus, CBPV), 급성꿀벌마미증(Acute bee paralysis virus, ABPV), 캐시미르벌바이러스병(Kashmir bee virus, KBV) 그리고 이스라엘급성꿀벌마미증(Israeli acute paralysis virus, IAPV) 7종이 보고되어 있다(Allen *et al.*, 1996; Ghosh *et al.*, 1999; Govan *et al.*, 2000). 2009년 낭충봉아부패병으로 인한 토종벌(*Apis cerana*)의 집단 폐사와 같은 바이러스성 질병은 서양종꿀벌에서는 아직까지 보고된 바가 없다.

따라서 본 연구에서는 꿀벌의 바이러스성 질병을 유발하는 7종의 바이러스가 서양종꿀벌의 일벌에서 분리한 봉독에서 검출되는지에 대한 시험을 수행하여 향후 원료의약품으로서의 사용 가능성을 알아보 고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 봉독 시료 및 꿀벌바이러스 양성 시료

봉독 시료는 2010년부터 2017년까지 서양종꿀벌 일벌을 대상으로 봉독채집장치(청진테크, 한국)를 이용하여 국립농업과학원 시험양봉장에서 채취한 봉독과 국내 양봉농가에서 채취한 봉독을 구입하여 시험에 사용하였다. 꿀벌 바이러스에 감염된 꿀벌은 양봉농가에서 이상증세를 보이는 봉군에서 수거한 꿀벌과 농림축산검역본부에서 분양받은 바이러스를

**Table 1.** Oligonucleotide primers detected for the amplification of bee venom isolated from honeybee worker and positive control

Name	Primer	Sequence (5'→3')	GeneBank accession no.	Product length (bp)	References
SBV	SBV-F	ACCAACCGATTCCCAGTAG	AF092924	487	Grabensteiner <i>et al.</i> , 2001
	SBV-R	CCTTGGAACTCTGCTGTGTA			
BQCV	BQCV-F	TGGTCAGCTCCCCTACTTAAAC	AF183905	701	Benjeddo <i>et al.</i> , 2001
	BQCV-R	GCAACAAGAAGAAACGTAACCCAC			
DWV	DWV-F	TCATCTTCAACTCGGCTTTCTACG		479	Lee <i>et al.</i> , 2005
	DWV-R	CGAATCATTTTCACGGGACG			
CBPV	CBPV-F	AGTTGTCATGGTTAACAGGATACGAG	AF461061	455	Ribiere <i>et al.</i> , 2002
	CBPV-R	TCTAATCTTAGCACGAAAGCCGAG			
ABPV	ABPV-F	TTATGTGTCCAGAGACTGTATCCA	AF150629	901	Benjeddo <i>et al.</i> , 2001
	ABPV-R	GCTCCTATTGCTCGGTTTTTCGGT			
KBV	KBV-F	GATGAACGTCGACCTATTGA	NC004807	415	Stoltz <i>et al.</i> , 1995
	KBV-R	TGTGGGTGGCTATGAGTCA			
IAPV	IAPV-F	AACGACCCGAACAAAAACAC	EF219380	567	Kang <i>et al.</i> , 2008
	IAPV-R	GCATTCCACGTAAATCGAGAG			

양성대조구로 사용하였다. 또한 이상증세를 보이는 꿀벌의 독낭을 분리하여 봉독을 채취 한 후 바이러스 감염여부를 판별하였다. 모든 시료는 시험 전까지 -20°C에 보관하였다.

### Primer 제작

봉독 내 바이러스 검출여부에 사용한 바이러스는 농림축산검역본부에서 진단 관리하는 SBV, BQCV, DWV, CBPV, ABPV, KBV, 그리고 IAPV 7종을 대상으로 하였다(농림축산검역본부, 2008). 바이러스 검출여부는 RT-PCR을 사용하였으며 primer는 Table 1과 같이 제작하였다(Stoltz *et al.*, 1995; Benjeccou *et al.*, 2001; Grabenstiner *et al.*, 2001; Ribiere *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2005; Ritter and Akranakul, 2006).

### Total RNA 분리 및 RT-PCR 분석

꿀벌 및 봉독시료의 RNA 분리를 위해 각 시료(꿀벌, 독낭, 봉독) 1g, 0.5mg, 0.5mg를 각각 5mL, 1mL, 1mL의 TRIzol Reagent(Thermo Fisher Scientific, CA, USA)에 넣고 균질화하여 15분 이상 상온에 반응시킨 후 상등액 800µL에 chloroform(Sigma-aldrich, MI, USA) 200µL를 혼합하여 상온에서 5분간 반응시켜 원심분리(12000g, 15분, 4°C)하였다. 상층액을 새로운 튜브에

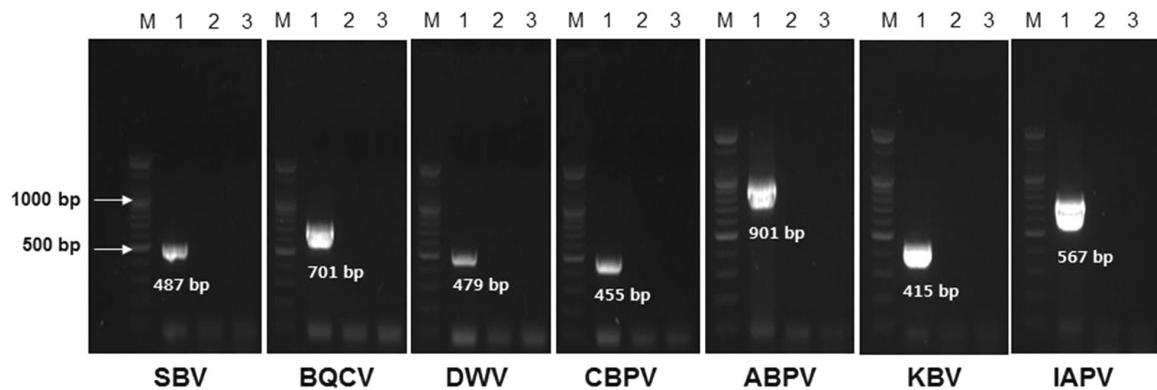
옮겨 500µL의 isopropanol(Sigma-aldrich)과 상온에서 10분간 반응시켜 RNA를 침전시킨 뒤 원심분리(12000g, 10분, 4°C)하였으며, 상등액 제거 후 80% 에탄올을 이용하여 washing 하였고 원심분리(12000g, 5분, 4°C) 한 침전물(pellet)을 DEPC treated water(Wel-GENE, 한국)에 녹여 약 1µg/µL의 농도로 하여 실험에 사용하였다. AmfiRivert cDNA Synthesis Platinum Master Mix(GenDEPOT, 한국)를 사용하여 분리한 RNA의 1µg을 cDNA로 합성한 후, Bioneer사(한국)의 AccuPower PCR Premix를 이용하여 20µL 반응에서 cDNA 2µL와 10 pmole의 primer가 첨가되도록 RT-PCR(TP3300, Takara, Japan)을 진행하였다. 반응 조건은 95°C에서 5분간 변성시킨 뒤, 95°C 20초, 60°C 30초, 72°C 1분씩 40 cycle 수행하였고 72°C에서 5분간 처리하여 증폭시켰다. 증폭산물은 0.5×TAE 용액을 이용한 1.2% Agarose gel에 100V로 전기영동 하였으며 Safe-Pinky DNA Gel Staining solution(GenDEPOT)를 사용하여 발현을 확인하였다.

### 결과 및 고찰

본 연구에서는 서양종꿀벌의 일벌에서 채취한 봉독을 원료의약품으로 사용하고자 바이러스에 대한

**Table 2.** Determination of the honeybee viruses by the amplification in bee venom isolated from honeybee worker, bee venom sac, and positive control

Virus	Number of samples detected virus/total samples		
	Honeybee worker	Honeybee bee venom sac	Honeybee venom
SBV	3/35	0/35	0/100
BQCV	7/35	0/35	0/100
DWV	10/35	0/35	0/100
CBPV	2/35	0/35	0/100
ABPV	5/35	0/35	0/100
KBV	3/35	0/35	0/100
IAPV	8/35	0/35	0/100

**Fig. 1.** Determination of the honeybee viruses using RT-PCR assay. Agarose gel showed that the presence of SBV, BQCV, DWV (Deformed wing virus), CBPV, KBPV, KBV, and IAPV was the amplicon size 487 bp, 701 bp, 479 bp, 455 bp, 901 bp, 415 bp, and 567 bp, respectively. M, molecular weight marker; 1, virus infected honeybee worker; 2, virus infected honeybee bee venom sac; 3, bee venom collected from honeybee using bee venom collector.

안전성 시험을 수행하였다. 꿀벌 바이러스로 알려진 6종의 바이러스와 낭충봉아부패병 유발 바이러스는 서양종꿀벌에 있어 가축전염병예방법과 OIE에는 관리대상으로 되어 있지 않지만(OIE, 2008; 농림축산식품부, 2017), 본 연구에서는 서양종꿀벌의 일벌로부터 채취한 봉독에서 바이러스 검출 여부를 확인하고자 하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 양성시료인 서양종 꿀벌 시료에서는 SBV, BQCV, DWV, CBPV, ABPV, KBV 그리고 IAPV 7종의 바이러스가 모두 검출되었다. 그러나 모든 봉독 시료에서는 꿀벌 바이러스가 전혀 검출되지 않았으며, 꿀벌 바이러스에 감염된 봉군에서 채취한 봉독에서도 꿀벌바이러스는 검출되지 않았다(Table 2).

꿀벌은 가축으로서 농림축산식품부의 가축전염병 예방법과 국제수역사무국(Office international des

epizooties, OIE)의 육상동물위생규약(Terrestrial Animal Health Code)의 질병 분류 현황에 관리되고 있다(OIE, 2008; 농림축산식품부, 2017). 우리나라에서는 꿀벌의 질병으로 부저병을 제3종 가축전염병으로 낭충봉아부패병은 제2종 가축전염병으로 지정하고 있다. 그 중 부저병은 OIE에서도 질병으로 지정하고 있으나 낭충봉아부패병은 OIE 질병 분류에서는 포함되어 있지 않다. 육상동물위생규약과 FAO에서는 기문응애 감염증(Acariosis), 미국부저병, 유럽부저병, 딱정벌레 감염증(Small hive beetle infestation), 가시응애감염증(Tropilaelaps infestation of honey bees), 그리고 꿀벌응애 감염증(Varroosis of honey bees) 6종을 꿀벌 질병으로 규정하고 있다(FAO, 2006; OIE, 2008). 이들 질병의 원 인체는 미국부저병과 유럽부저병은 세균성으로 각각 *Penibacillus larvae subsp. larvae*, *Melissococcus pluton*



이며, 기문응애감염증, 가시응애감염증, 꿀벌응애감염증은 기생충성으로 각각 *Acarapis woodi*, *Tropilaelaps*와 *Varroa* 응애로 인한 피해이다. 딱정벌레감염증은 *Aetbina tumida*, 작은벌집밑빠진벌레에 의한 피해로 2014년 우리나라에 처음 보고된 외래해충이다. 이처럼 꿀벌에 발생하는 질병은 소와 돼지 등 포유류가 아닌 곤충으로 인수공통전염병으로 알려진 질병은 전혀 없으며 세균성 질병인 부저병을 제외하고는 모두 기생충성 질병으로 꿀벌전염병으로 관리되는 질병에는 원인체가 바이러스성과 진균성 질병은 포함되어 있지 않다. 이 중 바이러스 질병은 우리나라에서 토종벌에 발생하는 낭충봉아부패병(*Sacbrood virus*, SBV)을 제외하고는 FAO와 OIE에서는 모두 제외되었다. 그러나 우리나라는 2007년 낭충봉아부패병이 국내에 유입되어 토종벌 봉군의 70% 이상을 폐사시킨 전례를 갖고 있을 만큼 토종벌에는 치명적인 질병으로 분류되었으나 서양종꿀벌에서는 관리 대상 질병에 포함되어 있지 않다(FAO, 2006; OIE, 2008).

서양종꿀벌은 인수공통 바이러스가 아직까지 보고된 바가 없으나 생물학적 유래 물질을 원료의약품으로 사용하기 위해서는 바이러스에 대한 안전성 확보를 요구하고 있기 때문에 서양종꿀벌로부터 채취한 봉독에 대해서 바이러스 검출 유무를 확인하고자 하였다. 이러한 결과들로부터 서양종꿀벌에는 꿀벌 바이러스를 보균하고 있더라도 독낭과 봉독에서는 바이러스가 검출되지 않는다는 것을 알 수 있었다. 또한 10년간 양봉농가에서 채취하여 상용화 된 정제봉독에서도 꿀벌 질병 바이러스는 전혀 검출되지 않았다. 따라서 서양종꿀벌에서 채취한 봉독은 꿀벌 질병 바이러스에 대해 안전한 것으로 확인되어 향후 인체적용 원료의약품으로 사용이 가능한 것으로 사료된다.

## 적 요

봉침요법은 오래전부터 한방과 민간에서 질병의 예방과 치료 목적으로 사용되어 왔으며 최근에는 봉독채집장치를 사용하여 대량으로 채취한 봉독이 한

의원과 화장품, 세정제 등의 원료로 사용되고 있다. 그러나 아직까지 봉독은 원료의약품으로 등록되어 있지 않아 고부가가치 의약품 개발에 제약을 받고 있다. 따라서 본 연구에서는 생물학적 유래 물질인 봉독의 원료의약품 등록을 위해 바이러스 오염 여부를 확인하고자 하였다. 우리나라 가축전염예방법에서 제2종 가축전염병으로 분류한 바이러스성 질병인 낭충봉아부패병바이러스(SBV) 한 종과 국내 양봉농가에서 발생보고 된 바 있는 검은여왕벌방바이러스(BQCV), 날개불구병바이러스(SWV), 만성꿀벌미비증바이러스(CBPV), 급성꿀벌마미증바이러스(ABPV), 케미르벌바이러스(KBV), 그리고 이스라엘 급성꿀벌마미증바이러스(IAPV)에 대한 봉독 감염 여부를 RT-PCR을 사용하여 분석하였다. 그 결과 2008년부터 2017년 10년간 양봉농가에서 채취한 100개의 봉독 시료에서 전혀 검출되지 않았으며 바이러스에 감염된 꿀벌의 독낭에서 채취한 봉독에서도 바이러스는 검출되지 않았다. 따라서 서양종꿀벌의 일벌에서 채취한 봉독은 꿀벌바이러스에 안전한 것으로 확인되어 원료의약품으로 사용 가능할 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 차세대바이오그린21사업(과제번호: PJ01316602)에 의하여 수행되었습니다.

## 인용 문헌

- 농림축산검역본부. 2008. 가축질병 분류 현황. pp. 1-13.
- 농림축산식품부. 2017. 가축전염병예방법. 제2조 식품의약품안전처. 2017. 원료의약품 등록제도 DMF. pp. 12-32
- 한상미, 이광길, 여주홍, 우순옥, 권해용. 2007. 봉독의 간이 정제 방법, 대한민국특허 10-075881.
- Allen, M. and B. Ball. 1996. The incidence and world distribution of the honey bee viruses. *Bee World* 77: 141-162.
- Benjeddou, M., N. Leat, M. Allsopp and S. Davison. 2001. Detection of acute bee paralysis virus and black queen cell virus from honeybees by reverse transcriptase PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 2384-2387.

- Curcio-Vonlanthen, V., C. H. Schneider, K. Frutig, K. H. Blaser, and H. Kalbacher. 1997. Molecular parameters in melittin immunogenicity. *J. Pept. Sci.* 3: 267.
- Fennell, J. F., W. H. Shipman and L. J. Cole. 1967. Antibacterial action of a bee venom fraction(melittin) against a penicillin-resistant *Staphylococcus* and other microorganisms. *Res. Dev. Tech. Rep.* 5: 1.
- FAO. 2006. Agricultural and food engineering technical report. Honey bee diseases and pests: practical guide.
- Ghosh, R. C., B. V. Ball, M. M. Willcocks and M. J. Carter. 1999. The nucleotide sequence of sacbrood virus of the honey bee: an insect picornavirus. *J. Gen. Virol.* 80: 1541-1549.
- Govan, V. A., N. Leat, M. Allsopp and S. Davison. 2000. Analysis of complete genome sequence of acute bee paralysis virus shows that it belongs to the novel group of insect-infecting RNA viruses. *Virology* 277: 457-463.
- Grabensteiner, W., W. Ritter, M. J. Carter, S. Davison, H. Pechhacker, J. Kolodziejek, O. Boecking, I. Derakhshifar, R. Moosbeckhofer, E. Licek and N. Nowotny. 2001. Sacbrood virus of the honeybee (*Apis mellifera*): rapid identification and phylogenetic analysis using reverse transcription-PCR. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 8: 93-104.
- Habermann, E. and K. G. Reiz. 1965. On the biochemistry of bee venom peptides, melittin and apamin. *Biochemistry* 343: 192.
- Han, S. M., K. G. Lee, J. H. Yeo and S. C. Pak. 2012. Dermal and Ocular Irritation Studies of Honeybee (*Apis mellifera* L.) Venom. *Am. J. Chem. Med.* 40: 795-800.
- Han, S. M., K. G. Lee, K. K. Park and S. C. Pak. 2013. Skin sensitization study of bee venom (*Apis mellifera* L.) in guinea pigs and rats. *Cutan. Ocul. Toxicol.* 32: 27-30.
- Han, S. M., J. M. Kim and S. C. Pak. 2015a. Anti-melanogenic properties of honeybee (*Apis mellifera* L.) venom in  $\alpha$ -MSH-stimulated B16F1 cells. *Food Agric. Immunol.* 26: 451-462.
- Han, S. M., I. P. Hong, S. O. Woo, K. K. Park, Y. M. Nicholls and S. C. Pak. 2015b. The beneficial effects of honeybee venom serum on facial wrinkles in humans. *Clin Interv. Aging.* 10: 1587-1592.
- Han, S. M., S. C. Pak, Y. M. Nicholls and N. Macfarlane. 2016. Evaluation of anti-acne property of purified bee venom serum in humans. *J. Cosmet. Dermatol.* 15: 324-329.
- Kang, M. H., I. W. Kim, M. S. Yoo, S. H. Kwon and B. S. Yoon. 2008. Development of PCR method for Israeli acute paralysis virus in honeybees (*Apis mellifera* L.). *Korean J. Apic.* 23: 29-36.
- Kim, H. W., Y. B. Kwon, T. W. Ham, D. H. Roh, S. Y. Yoon, H. J. Lee, H. J. Han, I. S. Yang, A. J. Beitz, and J. J. Lee. 2003. Acupoint stimulation using bee venom attenuates formalin-induced pain behavior and spinal cord fos expression in rats. *J. Vet. Med. Sci.* 65: 349.
- Lee, H. M., D. B. Lee, S. H. Han, M. L. Lee, Y. K. Lim and B. S. Yoon. 2005. Identification of deformed wing virus from the honeybee in Korea and establishment of PCR detection method. *Korean J. Apic.* 20: 85-94.
- Office international des epizooties (OIE). 2008. OIE Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animal (mammals, birds and bees). Sixth Edition. pp. 387-430.
- Piek, T. 1986. Venoms of the Hymenoptera. London, Academic Press.: 330.
- Ribiere, M., C. Triboulot, L. Mathieu, C. Aurières, J-P. Faucon and M. Pepin. 2002. Molecular diagnosis of chronic bee paralysis virus infection. *Apidologie* 33: 339-351.
- Ritter, W. and P. Akranakul. 2006. Honey bee diseases and pests: a practical guide. Food and Agriculture Organization of the United Nations: 1-31
- Rudenko, S. V. and E. E. Nipot. 1996. Modulation of melittin-induced hemolysis of erythrocytes. *Biokhimiia.* 61: 2116.
- Stoltz, D., X. R. Shen, C. Boggis and G. Sisson. 1995. Molecular diagnosis of Kashmir bee virus infection. *J. Api. Res.* 34: 153-160.