Purified Protein Derivative Tuberculin의 생산시험

가축위생연구소 김 정규 · 김 봉환 · 이 현수

서울대학교 농과대학 전 윤성

Studies on the Production of Purified Protein Derivative Tuberculins

J.K. Kim, B.H. Kim, & H.S. Lee

Veterinary Research Laboratory, Anyang, Korea

Y.S. Jeon

College of Agriculture, Seoul National University, Suwon, Korea

ABSTRACT

For the establishment of more reliable and applicable methods for the diagnosis of tuberculosis in dairy cattle, avian-and mammalian PPD tuberculins were prepared according to the methods of Weybridge purified protein derivative tuberculins with minor modifications. PPD tuberculin was not only a very pure product from a chemical standpoint, but also one which, judged on the basis of laboratory results, was likely to be more potent and reliable than HCSM tuberculin.

서 언

Koch가 1890년에 투베르쿨린을 창제하여 이것을 결핵병의 진단에 널리 보급하여 왔다. 이와 더불어 투베르쿨린의 제조법과 사용법도 몇가지 단계로 발전되어 왔으나 완벽한 투베르쿨린은 아직 얻지 못하고 있다.[9,11]

우리나라에서는 1613년부터 1960년까지 4% Glycerol-beef broth배지를 사용하여 Koch Old Tuberculin(이하 KOT라 함)을 생산하였고 이것을 피하 열반응법으로 유우, 한우 및 유산양의 결핵병 진단에 사용하여 왔었다. 이 KOT 중에는 비특이물질인 제조배지유래의 육즙 단백질이 함유되어 있을 뿐 만 아니라 열반응의 반응수기상으로 불합리한 점이 있다는 이유로 1961년부터 무단백합성배지인 Sauton배지를 사용하여 만든 Heat Concentracted Synthetic Medium Tuberculin(이하 HCSM Tuberculin이라 함)을 생산하기에 이르렀고 이것을 단일피내주사법으로 가축의 결핵병 진단에 사용하고 있다.[5]

매년 증가하고 있는 유우에 있어서의 결핵병의 방역은 정부 방역계획에 의하여 매년 정기적으로 결핵병우를 색출도태하고 있으나 결핵우 발생은 증가하는 경향이 있어 공중위생상 큰 문제가 되고 있다. 소의 결핵병의 발생이 증가하고 있는 요인은 여러가지로 생각할 수 있겠으나 진단의 정확성을 기하여 결핵우를 도태한다면 이의 발생율을 감소시킬 수 있으므로 소의 결핵병의 진단액인 투베르쿨린의 제조와 이의 야외적용방법 및 적응상의 제 문제점을 우선 생각하지 않을 수 없다.[13,14]

현행의 투베르쿨린 검사에는 몇가지 문제가 내포돼 있다. 첫째는 1차검사시의 의양성반응우가 2차검사에서의 음전율이 높다는 것과 둘째는 비특이적인 반응양상으로 인하여 무병소우(Non Visible Lesion Reactor)의 출현도가 높다는 것이다.

이러한 문제점을 해결하기 위해서는 우선 반응을 정확히 유발시킬 수 있는 투베르쿨린을 사용하는 것과 반응의 판정 등 시술상의 제 문제점을 해결하는 것과 비특이반응을 유발하는 여러가지의 요인에 대한 분석 및 이의 대책을 강구하는 것 등을 들 수 있겠다.[4,11,13] 이러한 관점에서 저자들은 현재 사용하고 있는 투베르쿨린 중에서는 가장 화학적으로 순수하고 활성물질인 결핵단백질의 함량을 정확히 조절할 수 있는 Purified Protein Derivative Tuberculin(이하 PPD Tuberculin 이라 함)을 시험적으로 제조하였으며 이것을 사용하여 투베르쿨린의 형특이성을 이용한 비교법을 아울러 시험하였다.

재 료 및 방 법

1. 사용 균주

미국 농림성으로 부터 분양받은 Mycobabrium tuber-

culosis C, Dt 와 Pn의 세주와 영국의 Central Veterinary Laboratory로부터 분양받은 Mycobacterium avium D_4주를 PPD Tuberculin 제조용 균주로 사용하였다.

2. 사용 배지

PPD Tuberculin을 제조하기 위하여 종균막형성배양을 위해서는 Sauton-potato배지를 사용하였으며 생산배지로는 Dorset-Henley배지를 사용하였다.

3. 대조 투베르쿨린

시제(試製) PPD Tuberculin의 역가를 비교검토 하기 위하여 농촌진흥청 가축위생연구소에서 생산한 HCSM Tuberculin(1968년도 Lot No. 1)을 대조 투베르쿨린으로 사용하였다.

4. 시험동물

시제 PPD Tuberculin의 역가를 측정하기 위하여 체중 400~500gm되는 건강한 기니픽을 암수 구별없이 불활화 결핵균으로 감작하여 사용하였다. 공시유우는 현재 야외에서 정기 결핵검사 결과 양성우로 판정되어 살처분될 유우 3두를 경기도 일대에서 수집하여 사용하였으며, 이것으로 HCSM Tuberculin과 시제 PPD Tuberculin의 유우에 대한 반응을 관찰하였다.

5. 종균배양

생감자를 콜크천공기로 1.2~1.5×2.5~3cm의 반원추형으로 절단하여 증류수로 2회 깨끗이 씻고 Sauton배지에 하룻밤 침적한 후 Sauton배지를 8~10ml씩 분주한 루시험관의 액면상에 넣었다. 이것을 100°C에서 30분간 3회 간헐멸균하여 37°C에서 72시간 동안 무균배양 검사 후 감자의 사면에 제조용 결핵균을 각각 도말하고 37°C 부란기에서 2주간 배양하여 형성된 균막을 종균재료로 사용하였다.

6. 본배양

Dorset-Henley 배지를 100ml씩 분주한 300ml 플라스크에 직경 1cm인 와권백금이로 종균막을 옮겨서 부유배양하고 플라스크면전을 2겹의 유지로 싸서 37.5°C 부란기에서 10주간 배양하였다.

7. 살균 및 여과

본배양 플라스크를 육안으로 관찰하여 잡균의 증식이 있거나 이상 발육을 한 것은 제거하고 충분히 발육을 한 것을 택하여 100°C에서 3시간 동안 살균하고 실온에서 하룻밤 정치한 후 Pn, Dt, C주의 배양 플라스크는 각각 같은 수를 택하며 80목의 동망과 여과지로 여과한 것을 Seitz Ek로 다시 여과하였다. D_4주의 배양여액도 위와 같은 요령으로 처리하였다.

8. 단백침전 및 세척

결핵균의 배양여액에 1/9량의 40% Trichloracetic acid (Merck, S.G) 용액을 가하여 잘 혼합한 후 실온(20~25°C)에서 하룻밤 정치하여침전시켰다. 침전물을 250ml 원심침전병에 넣어 2,000 R.P.M.으로 10분간 원심침전하여 상청액은 버리고 1% Trichloracetic acid 약 200ml을 넣어 10분간 진탕하여 다시 2,000 R.P.M.으로 10분간 원심침전하였다. 이와 같은 요령으로 1% Trichloracetic acid용액으로 3회 반복하여 배양여액중의 배지성분을 제거하고 10% Sodium chloride(Merck) 용액으로 Trichloracetic acid 성분을 제거하였다.

9. PPD Tuberculin 원액 및 PPD분말 제조

앞에서 만들어진 원심침전된 결핵단백에 M/15 Disodium phosphate(Baker)용액 15ml을 가하여 용해시킨 후를 7.0~7.2로 수정하고 진탕기에 2시간 동안 진탕하여 완전한 용액상태로 만들어 50% Glycerin(U.S.P.)과 2.5% Phenol(U.S.P.), 2.5% Sodium Chloride 용액을 가하여 원배양여액의 1/10량으로 되게하는 동시에 이 용액 내의 각성분의 함량은 Glycerin 10%, Phenol 0.5%, Sodium chloride 0.5%되게 조절하고 Disodium phosphate의 농도는 M/30가 되게끔 M/3 Disodium phosphate 용액으로 조절하였다. 위와 같이 하여 만든 PPD Tuberculin 원액의 PH는 7.0으로 수정하였다.

8에서 얻은 250ml 원심침전병에 Acetone(wako, 특급) 200ml을 가하여 진탕하고 2,000 R.P.M.으로 10분간 원심분리하여 상청액은 버리고 다시 반복하여 세척하고 난후 Ether(Merck)로 2회 세척하였다. Acetone과 Ether로 반복하여 세척하고 난후 여과지 3겹으로 침전병을 밀봉하여 37°C 부란기 내에서 하룻밤 동안 방치하여 건조된 PPD분말을 만들었다.

10. PPD Tuberculin 원액의 단백질 함량측정

Kjeldahl 법에 의하여 PPD Tuberculin원액 중의 총질소량을 측정하여 단백함량을 구하였다.

11. PPD Tuberculin의 농도조절 및 여과

Seitz Ek로 여과한 후 인형 PPD Tuberculin의 단백질 함량은 2mg/ml, 조형 PPD Tuberculin의 단백질함량은 0.5mg/ml가 되게 pH 7.0의 Glycerin이 10%, Phenol이 0.5% 함유된 M/30 phosphate buffer로 농도를 조절하였다

12. 역가 시험용 기니픽 감작

결핵사균체(인형 PPD Tuberculin의 역가 시험용 기니픽감작 결핵사균액은 Pn, Dt, C주의 사균체로 조형 PPD Tuberculin의 역가 시험용 기니픽감작 사균액은 D_4주의 사균체를 각각 사용하였음)를 흡수지 3겹으로 싸서 지압을 가하여 수분을 제거한 다음 멸균파라핀유 ml당 1mg의 비율로 함유되도록 사균유재액을 만들어 60분간 진탕하고 100°C에서 30분간 멸균하였다. 그리고 잡균의 혼입여부를 확인하고 난 후 이 사균유재액을 체중 400~500gm되는 건강 기니픽의 양후지 내측 근육내에 0.5ml씩 주사하여 21일 이상 감작하였다.

13. 결핵사균감작 기니픽에 대한 PPD Tuberculin의

역가시험

인형 PPD Tuberculin의 역가시험은 Pn, Dt, C주의 사균체로 감작한 기니픽의 배부를 탈모하고 1/200, 1/800, 1/3,200로 희석된 인형 PPD Tuberculin과 HCSM Tuberculin을 배정중선을 중심으로 각각 대칭부위의 피내에 0.2ml씩 주사하여 24시간째의 피부반응치를 측정하여 비교하였다[4,12]. 조형 PPD Tuberculin은 1/100, 1/400, 1/1,600로 희석하여 D_4주로 감작된 기니픽에 위와 같은 요령으로 실시하였다.

14. HCSM Tuberculin 양성우에 대한 PPD Tuberculin의 역가시험

현행법에 의하여 투베르쿨린 양성우로 판정되어 방역상 살처분될 유우 5두에 대하여 인형 및 조형 PPD Tuberculin을 각각 대칭부의 경부(중앙 1/3부위)피내에 접종하여 72시간 후의 반응치를 관찰하였다. 대조로는 HCSM Tuberculin을 미근부 추벽의 피내에 접종하여 72시간 후의 반응치로써 비교하였다[1,2,7,11]

시 험 결 과

1. 종균배양

결핵균을 액체배지에 이식하기 위하여 고형배지에서 증식시킨 제조용 균주를 Sauton-potato 배지의 감자 사면에 도말배양하고 각균주별로 균막증식상태를 주별로 관찰하였던 바 표 1과 같은 성적을 얻었다.

표 1. PPD Tuberculin 제조용 균주의 sauton-potato 배지에서의 균막형성

Table 1. Pellicle formation of M. tuberculosis Pn,Dt,C and M. avium D_4 strains on sauton-potato media.

균주 Strains	접종 7일 후 7 days after inoculation		접종 14일 후 14 days after inoculation	
	균막형성수 No. of pellicle formed	%	균막형성수 No. of pellicle formed	%
Pn	5	28	9	50
Dt	0	0	3	17
C	4	22	6	33
D_4	7	39	15	83

표 1에서와 같이 배양후 1주째의 각 균주의 균막형성상태는 D_4주가 가장 좋았으며 Pn, C주의 균막은 D_4주처럼 전액면을 덮지 않았으며 막도 엷었다. 제 2주째의 균막형성상태도 D_4주가 Pn, Dt, C주보다 훨씬 좋았다. Dt주의 균막형성 및 증식상태는 가장 나빴으나 종균막으로 사용하는 데는 지장이 없었다. 위의 결과로 보아 조형결핵균의 발육은 인형 결핵균보다 우수하다는 것을 알 수 있었으며 균막의 형성 및 증식상태는 균의 발육속도와 관계가 깊다는 것을 알 수 있었다.

2. 본배양

PPD Tuberculin 제조용 균주의 액체배지에서의 발육상태를 관찰하기 위하여 Dorset-Henley배지에 종균막을 부유배양하고 37.5°C 부란기에서 10주간 배양하였든바 표 2와 같은 결과를 얻었다.

10주간 배양한 후 육안으로 봐서 잡균의 혼입이 없고 전액면에 고르게 발육이 잘된 것을 택하여 PPD Tuberculin 제조용으로 사용하였다. 표 2에서와 같이 Pn주는 81%, Dt주는 67%, C주는 69%가 충분히 발육하였으며 D_4주는 91%로 가장 발육율이 좋았다. 전반적으로 조형균주인 D_4주의 발육상태는 인형균주인 Pn, Dt, C주 보다 좋았다. 각 균주중 발육불양인 것은 잡균의 혼입이 있는 것과 초기에 균막의 침강으로 인하여 발육이 되지 않은 것이 였었다.

표 2. PPD Tuberculin 제조용균주의 Dorset-Henley 배지에서의 본배양 결과

Table 2. Growth of M. tuberculosis Pn, Dt, C and M. avium D_4 on Dorset-Henley media.

균주 Strains	본배양수 No. of flask inoculated	정상발육수 No. of sufficient growth	발육율 %
Pn	36	29	81
Dt	36	24	67
C	35	25	69
D_4	80	73	91

3. 시제 PPD Tuberculin원액의 단백질 함량 측정시험

PPD Tuberculin 원액 중에 함유된 투베르쿨린의 활성물질인 결핵단백질(Tuberculoprotein)의 함량을 측정하여 일정한 역가를 유지하는 투베르쿨린을 제조하기 위하여 같은 양의 배양여액으로 동일한 조건하에서 제재한 인형 PPD Tuberculin과 조형 PPD Tuberculin 원액에 함유된 총질소량을 Kjeldahl법으로 측정하여 산출한 단백질의 함량은 표 3과 같다.

표 3. 시제 PPD Tuberculin원액의 단백질 함량

Table 3. Total protein in contentracted solution of PPD tuberculin.

제품 Products (Lot No.)	인형 PPD Tuberculin (mg/100ml) Mammalian PPD tuberculin	조형 PPD Tuberculin (mg/100ml) Avian PPD tuberculin
1	451 50	107.56
2	450.00	108.13
3	449.69	109.75
평균 Mean	450.40	108.48

표 3에서 보는 바와같이 인형 PPD Tuberculin 원액에 함유된 단백질의 양은 조형 PPD Tuberculin원액에 함유된 단백질 양의 약 4배이였다. 이 성적은 조형균의 PPD

산생능은 인형균의 1/4정도라고 한 Lesslie[6] 등의 보고와 일치 하였다.

4. 감작기니픽에 대한 시제 PPD Tuberculin 및 HCCM Tuberculin의 접종시험

시제 PPD Tuberculin의 결핵사균감작 기니픽에 대한 반응양상을 관찰하고 인형 PPD Tuberculin과 HCSM Tuberculin의 역가를 비교검토 할 목적으로 인형 PPD Tuberculin과 조형 PPD Tuberculin의 농도를 각각 PPD 2.0mg/ml, PPD 0.5mg/ml가 되게 조절하여 각 제조용 균주의 사균체로 감작한 체중 400~500gm되는 건강기니픽(감작후 21~60일 사이에 있는 기니픽을 사용하였음)에 대하여 3점분석시험(3 point potency test)을 실시하였든바 표 4, 표 5, 그림 1, 그림 2와 같은 성적을 얻었다.

표 4에서와 같이 결핵사균감작 기니픽에 대한 인형 PPD Tuberculin 및 HCSM Tuberculin의 피내반응은 유의적인 차이는 인정할 수 없었으나 인형 PPD Tuberculin의 피내반응치가 약간 높은 경향이 있었다.

표 4. 감작기니픽에 대한 인형 PPD Tuberculin과 HCSM Tuberculin의 역가비교

Table 4. Comparisions of biological activity of mammalian PPD and HCSM tuberculins on guinea pig sensitized to M. tuberculosis

Guinea pig No.	Mammalian PPD tuberculin			HCSM tuberculin		
	200*	800	3,200	200	800	3,200
1	25.0+	20.0	12.3	20.8	16.5	11.5
2	27.3	16.8	12.8	22.3	17.3	11.5
3	22.8	17.3	11.0	21.3	15.6	9.0
4	22.0	14.8	10.0	21.0	15.3	9.0
5	24.5	16.3	11.8	18.0	15.5	11.8
6	25.3	19.0	11.8	24.8	15.3	11.8
평균 Mean	24.5	17.4	11.6	21.4	15.8	10.8

* : 희석배수의 역수 Reciprocal dilution of tuberculin

+ : 반응평균치(mm) Diameters of reaction (mean in mm)

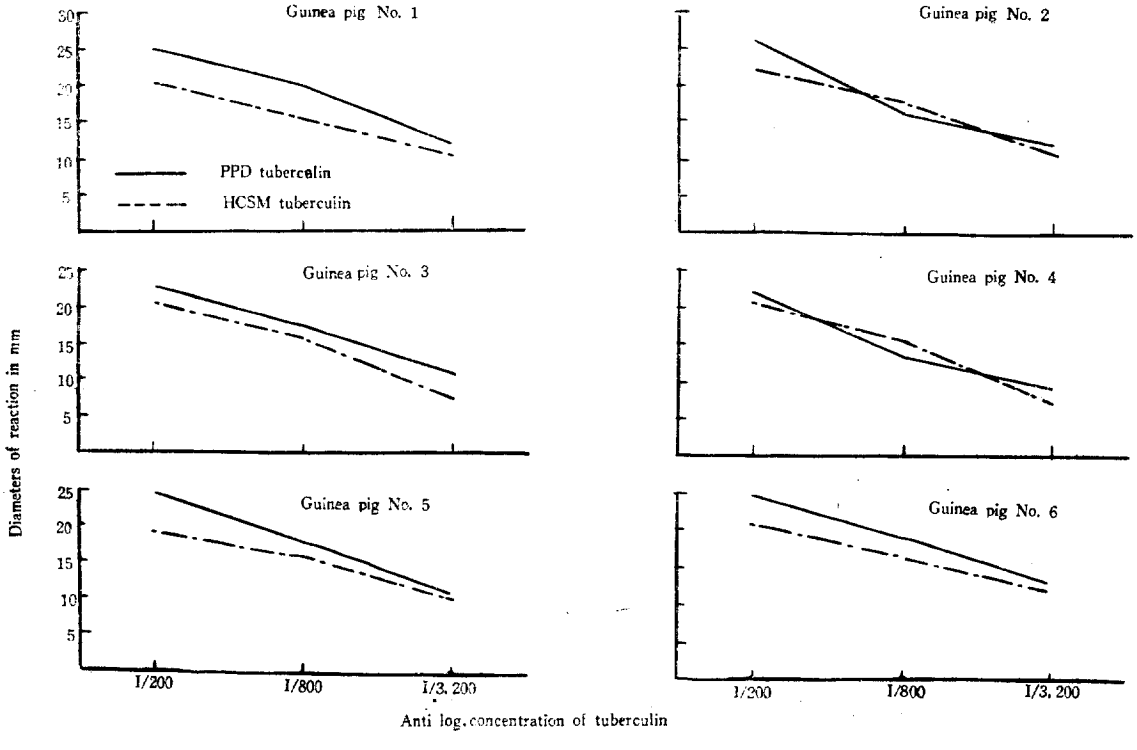

그림 1. 인형 PPD Tuberculin과 HCSM Tuberculin의 감작기니픽에 대한 투베르쿨린양과 반응과의 관계

Fig. 1. A comparision of 3 point potency tests of mammalian PPD and HCSM tuberculins on guinea pig sensitized to M. tuberculosis.

그림 1은 감작 기니픽에 대한 결핵반응곡선을 표시한 것이다. 그림 1에서와 같이 인형 PPD Tuberculin 및 HCSM Tuberculin의 반응곡선은 거의 직선적이였으며 인형 PPD Tuberculin의 역가가 약간 높은 경향이 있다는 것을 알 수 있었다.

표 5에서와 같이 결핵사균감작 기니픽에 대한 조형 PPD Tuberculin의 100배 희석액의 반응 평균치는 16.9 mm이였고 400배에서는 12.4mm, 1,600배에서는 8.6mm 이였다.

그림 2는 기니픽에 대한 조형 PPD Tuberculin의 결핵반응곡선을 표시한 것이다. 그림 2에서와 같이 반응평균치는 거의 직선적인 효과를 얻었으며 기니픽 No. 3, 4, 5, 6은 정형적인 반응을 나타낸 예라 하겠다. 조형 PPD Tuberculin의 역가는 대조 투베르쿨린으로 비교검토하지 못하였다. 그러나 직선적인 "Does response curve"를 보여 주었다는 점과 PPD의 양으로 역가를 조절하였다는 점으로 보아 "Issue strength"의 역가를 유지하고 있다고 볼 수 있겠다.

표 5. 감작기니픽에 대한 조형 PPD Tuberculin의 역가측정
Table 5. Biological activity of avian PPD tuberculin on guinea pig sensitized to M. avium)

기니번호 Guinea pig No.	반응평균치 (mm) Diameters of reaction (mean in mm)		
	100*	400	1,600
1	16.3	11.5	8.5
2	16.3	10.5	7.5
3	15.5	12.5	8.5
4	19.3	14.0	9.0
5	19.0	14.3	9.5
6	14.5	11.5	8.3
평균 Mean	16.9	12.4	8.6

※ : Reciprocal dilution of tuberculin
희석배수의 역수

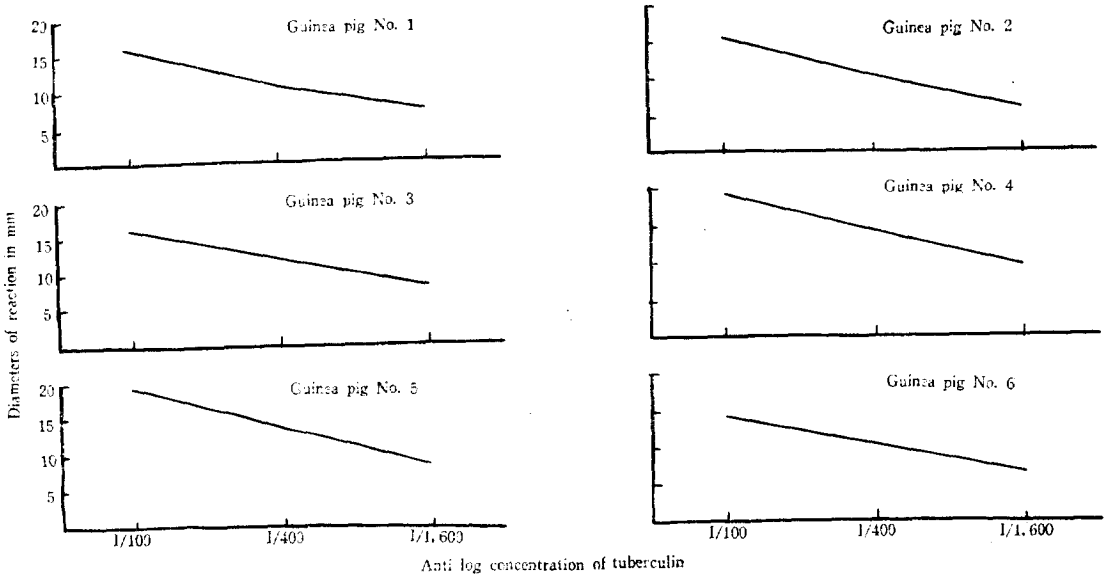

그림 2. 조형PPD Tuberculin의 감작기니픽에 대한 투베르쿨린양 과 반응과의 관계
Fig 2. 3 point potency tests of avian PPD tuberculin on guinea pig sensitized to M. avium.

5. 투베르쿨린 양성우에 대한 시제 PPD Tuberculin 및 HCSM Tuberculin의 접종시험

PPD Tuberculin 및 HCSM Tuberculin의 유우에 대한 반응을 비교 검토하기 위하여 투베르쿨린 양성우에 대하여 접종시험을 실시하였다. PPD Tuberculin의 접종은 단일피내비교법에 의하여 경부피내에 0.1ml씩 각각 주사하였으며 HCSM Tuberculin은 미근부 추벽피내에 0.1ml을 주사하였다. 주사후 72시간에 피내반응치를 측정하고 반응판정후 3일에 공시유우를 해체하여 반응과 실제 결핵병소와의 관계를 관찰하였든 바 그 성적은 표 6과 같다.

표 6에서 보는 바와 같이 공시유우 20, 21, 22, 23호는 인형 PPD Tuberculin과 HCSM Tuberculin에 양성반응을 나타내었으며 특히 23호는 조형 PPD Tuberculin에도 양성반응을 나타내었다. 공시유우 25호는 인형 PPD

표 6. 투베르쿨린 양성우에 대한 PPD Tuberculin 및 HCSM Tuberculin의 비교시험
Table 6. Comparison of biological activity of PPD and HCSM tuberculins on tuberculin positive dairy cattle

유우번호 Cattle No.	피내반응치 (mm) Mean increase in skin fold thickness (mm)			부검소견 Postmortem findings
	Mammalian PPD	Avian PPD	HCSM	
20	15.0	1.0	19.0	결핵병우 Tuberculous cattle
21	11.0	2.5	33.5	〃
22	6.5	1.0	12.0	〃
23	10.0	6.0	6.0	〃
25	2.0	0.0	0.5	〃

Tuberculin에는 2.0mm, HCSM Tuberculin에는 0.5mm, 조형 PPD Tuberculin에는 반응을 나타내지 않았다. 그리고 공시유우 5두의 부검 결과는 모두 진성 결핵병우였었다.

여기에서 중요시 되는 것은 25호 공시유우의 투베르쿨린 반응이 모두 반응판정상 음성이였다는 것과 공시유우 20, 21, 22, 23호의 조형 PPD Tuberculin에 의한 반응양상이라고 생각된다.

공시유우 25호는 투베르쿨린 검사 간격일수가 35일로써 다른 4두의 공시유우보다 약 30일 짧았었다.

조형 PPD Tuberculin을 우리나라 유우에 적용한 성적은 아직까지 보고된 바 없으나 본시험의 결과 적어도 공시유우 5두중 4두가 조형 PPD Tuberculin으로 1~6mm의 반응을 나타내었다는 것은 상당히 주목할만 하다고 하겠다.

고 찰

투베르쿨린에 대한 연구의 일반적인 목적은 감염의 형태야 여하든 간에 결핵 감염동물에 대한 특이반응이 최대한으로 일어나게 하고 비감염동물이나 비특이 감염동물에는 반응을 최소한으로 나타내지 않는 제품을 만들어 내는데 있다. 후자의 경우는 개체의 Allergic capacity가 낮아서 투베르쿨린의 Diagnostic dose가 높은 수의부문에서는 중요한 관심꺼리가 아닐 수 없다[11]. 이러한 제조건을 만족시킬 수 있는 투베르쿨린은 우선 반응이 특이적이여야 한다는 관점에서 투베르쿨린 자체가 순수해야 함은 물론 투베르쿨린의 활성물질인 결핵단백질이 화학적으로 순수해야 하며 이 결핵단백질의 양을 정확히 가감할 수 있는 조건이 구비되어져야 한다고 생각된다. 현재 사용하고 있는 투베르쿨린 중에서는 가장 순수하고 발달된 형태의 하나인 PPD Tuberculin을 Green[14]의 방법에 준하여 시제하였다.[4,11]

Sauton-potato배지에서의 균막형성배양과 Dorset-Henley배지에서의 본배양 성적은 표 1, 2에서와 같이 조형결핵균인 D_4주가 가장 발육이 왕성하였으며 균막형성도 잘 되었다. 반면에 PPD의 산생능은 인형결핵균의 약 1/4정도였다(표 3 참조). 이것은 Lessile가 인형결핵균의 PPD 산생능은 조형결핵균보다 우수하며 약 4배정도라고 한 성적과 일치하였다.

시제 PPD Tuberculin과 HCSM Tubercuiin의 역가를 비교하기 위하여 결핵사균감작 기니픽에 실시한 접종시험의 결과 인형 PPD Tuberculin의 역가는 HCSM Tuberculin의 약가보다 약간 높은 경향은 있으나 통계학적인 유의성은 없었고 "Dose response curve"가 직선적이였다는 것으로 봐서 시제 인형 PPD Tuberculin은 Issue strength의 역가를 유지하고 있다고 생각된다.[4]

조형 PPD Tuberculin의 역가는 대조 투배르쿨린을 입수하지 못하여 비교는 하지 못하였으나 D_4주로 감작한 기니픽에 대한 반응양상 및 그림 2에서와 같이 "Dose responte curve"가 직선적이였다는 사실을 감안할 때 조형 PPD Tuberculin도 Issue strength의 역가를 발현할 수 있는 투배르쿨린이라고 할 수 있겠다.

투배르쿨린 양성유우에 대한 PPD Tuberculin 및 HCSM Tuberculin의 접종반응 성적을 보면 인형 PPD Tuberculin에 2mm 이상의 반응을 보이면 결핵병우였으며 HCSM Tuberculin에 0.5mm 이상의 반응을 나타내면 결핵병우였다는 것을 알 수 있다. 여기에서 주목할만 하다고 생각되는 것은 25호 공시유우의 투배르쿨린 접종반응 결과이다. 공시유우가 불과 5두이므로 전체를 추정하기는 지극히 곤란하나 PPD 및 HCSM Tuberculin에 모두 음전화한 원인은 투배르쿨린 반복접종에 의한 탈감작의 현상이 일어난 것이라 생각할 수 있다. 한편 Nemoto[13] 등에 의하면 투배르쿨린 반복접종 간격 일수를 짧게 하면 반응의 촉진화 현상이 일어나서 실제 반응 판정시간에는 반응이 소실하는 단계이므로 반응의 판정을 더욱 세심히 하여야 할 필요성이 있다고 한다.

공시유우 25호의 투배르쿨린 반복접종 간격은 35일로써 현행법에 의한 14일 보다는 길지만 미국이나 영국 등에서 재검사 간격을 60일 이상으로 정하고 있는 것과 비교하면 짧다는 것을 알 수 있다.[3,6,11]

조형 PPD Tuberculin에 반응을 보인 예가 5두중 4두(80%)나 된다는 사실과 그중 1예가 6mm 정도의 강한 반응을 나타내었다는 것은 역시 주목할만 하다고 생각된다. 우리나라의 유우에 대하여 조형 PPD Tuberculin을 적용한 적이 아직까지 없었으며 조형 결핵균을 유우로부터 분리한 사실도 없다.

본시험의 성적으로써는 조형 PPD Tuberculin에 반응을 야기케한 원인이 조형 결핵균의 감염에 의한 것인지 그밖의 항산성균의 감염에 의한 교차반응인지 확실히 알 수 없으나 조형 PPD Tuberculin에 반응을 나타낸 4두의 공시유우는 결핵병우 였었다.

시험적으로 제재한 PPD Tuberculin과 Weybridage의 표준 PPD Tuberculin과의 역가를 비교하지는 못하였으나 감작 기니픽 및 투배르쿨린 양성우에 대한 HCSM Tuberculin과의 비교성적과 제재시 PPD의 양으로 역가를 조절하였으며 "Dose response curve"가 직선적이였다는 점으로 미루어 보아 시제 PPD Tuberculin은 Issue

strength의 역가를 발현할 수 있는 우수한 투배르쿨린이라고 할 수 있겠다.

적 요

Weybridge PPD Tuberculin 제조방법에 의하여 인형 및 조형 PPD Tuberculin을 시험적으로 제재하고 결핵사균 감작 기니픽 및 투배르쿨린 양성유우에 대한 접종시험 및 HCSM Tuberculin과의 비교시험의 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 시제 인형 및조형 PPD Tuberculin은 Issue strength의 역가를 발현할 수 있는 우수한 투베르쿨린이였다.

2. 우리나라에서 처음 조형 PPD Tuberculin을 유우에 적용하였으며 여기에 양성반응을 나타내는 유우가 있다는 것을 알았다.

3. 투베르쿨린 양성유우에 대한 비교시험의 결과 PPD Tuberculin이 HCSM Tuberculin 보다 결핵우를 진단하는데 있어 더 특이적인 것 같다.

SUMMARY

Avian and mammalian PPD tuberculin were prepared experimentary and their biological activities were compared with HCSM tuberculin on guinea pigs sensitized to M. tuberculosis and tuberculin positive dairy cattle.

In addition, some disscussions were made on the process as well as biological of PPD tuberculin.

The results indicate that PPD tuberculin was capable to meet a issue strength and was likely to be more reliable and applicable for the detection of tuberculous cattle than HCSM tuberculin.

It is an interesting fact to that one of the tuberculin-positive dairy cattle was also positively reacted to avain PPD tuberculin.

인 용 문 헌

1. Aurey B. Larsen, Louis A. Baisden, Richard S. Merkal & Meredith J. Morris. 1957. Methods of Injec-ting Tuberculin in Cattle. Ame. J. Vet. Res., XVIII : 446~549.
2. Davidson, R.M. 1965. A Comparison of the Efficacy of Canadian and Australian Tuberculins. Part 1~3., New Zealand Vet. J., 13:109~115 (Part I), 154~158 (Part II), 159~162 (Part III)
3. Draft of International Zoo-sanitary Regulation. 2nd edition amended october 1967, Vol. 2, Chap. XVIII.
4. Green, H.H. 1953. Description of Weybridge Purified Protein Derivative Tuberculins. WHO mono-graph series No. 19.
5. History of Preventive Medicine of Domestic Animal Korean Vet. Med. Asso. No. 1, 1966.
6. Iowa Tuberculosis Manual. 1955.
7. Kenneth L. Kuttler & Louis A. Baisden. 1962. Allergic Responses of Naturally Sensitized Cattle to Tuberculin Fraction. Ame. J. Vet Res., 23(95)
8. Kim, Jung Kyu. 1963. Studies on the Tuberculin Production for Intrademic Use. Bell. Vet. Res. Lab. ORD. 9(1):51-58.
9. Kim, Jung Kyu. 1965. Bovine Tuberculosis. Jour. Korean Vet. Med. Asso., 9(3):56~61.
10. Kim, Ju ng Kyu. 1969. Studies on the Tuberculin. Jour. Korean Soc. Microbiol. 4 (1):21~28.
11. Lesslie, I.W. 1961 The Tuberculin Test and the the Laboratory Diagnosis of Tuberculosis
12. Lessile, I. W. & C. Nancy Herbert. 1965. Theuse of Dilute Tuberculins for Testing Cattle. British Vet. J., 121:427~436.
13. 日本農林省家畜衛生試驗場. 集談會編. 1967. 家畜傳染病의 診斷.
14. Tuberculinand Tuberculin Test. 1951. WHO Technical Report Series. No. 40.