

Tuberculin 陽性 無病巢乳牛의 鑑別診斷에 관한 實驗的研究

金 鍾 冕

全北大學校 農科大學 獸醫學科

緒 論

結核診斷에 있어서 tuberculin 反應은 널리 응용되고 있는 방법이지만 atypical mycobacterium 으로 인하여 非特異的인 反應을 나타내며²⁷⁾ 重症結核이나 潛伏期間中 또는 steroid therapy, neoplastic disease, viral vaccines, measles, 老年期 및 sarcoiroides 등으로 allergy 로 되기 때문에 tuberculin 反應의 精確성을 기대하기 어려운 실정이다. 그뿐 아니라 結核과 brucellosis, listeriosis, leprosy 에서도 交叉反應이 일어나 tuberculin 反應은 완벽한 結核診斷의 수단이라고는 할 수 없으며 우리나라에서 tuberculin 反應 陽性 無病巢乳牛는 66.7%(1970년), 76.9%(1971년)로 보고되어 全體 乳牛의 0.3%가 無病巢反應으로 나타나 있다.

近年 結核의 補助診斷으로는 試驗管内 組織培養에 있어서 抗原에 대한 細胞의 transformation rate 의 應用,^{14, 25, 27)} 抗原에 의해서 일으켜지는 遲延型過敏狀態의 macrophage 의 migration test 에 관한 연구^{7, 10, 28)} 를 비롯하여 循環血液 淋巴球의 PPD 刺戟에 의한 抗體產生^{1, 3, 4, 28)} 그리고 淋巴球를 이용한 migration test 에 있어서의 PPD 에 대한 特異性檢討 등^{2, 5, 9, 15, 20, 22, 23, 24)} 많은 연구가 이루어지고 있다.

同一한 菌屬의 mycobacterium 일지라도 菌種에 따라 淋巴球의 PPD 에 대한 transformation rate 의 差異가 있으므로²⁷⁾ 이 실험은 typical mycobacterium 인 BCG, *Mycobacterium avium* 그리고 atypical *Mycobacterium* 인 *M. smegmatis* 를 실험동물로 선정된 돼지에 각각 接種시킨 다음 各處理豚群의 循環血液에서 백혈구를 얻어 毛細 유리관에 注入 遠沈한 후 PPD 를 첨가, 조직배양 chamber 內에서 細胞의 migration test 를 시도하였다. 그리고 보조적으로 PPD 에 대한 淋巴球의 transformation rate 를 관찰하여 細胞免疫學的인 면에서 상호 意義있는 關係성을 얻을 수 있었다. 이것이 乳牛의 結核診斷에 다소의 도움이 될 것으로 생각된다.

材料 및 方法

細菌 : 사용된 菌株는 BCG *Mycobacterium avium* 그리고 *M. smegmatis* 로서 家畜衛生 研究所에서 分讓받아 BCG 는 TB broth 에 tween albumin 을 加하여 배양하고 *M. smegmatis* 와 *M. avium* 은 Herold's egg medium 에 glycerol 를 넣어 배양하여 14 일간 增菌시킨 후 2,000 rpm 으로 30분간 遠沈시킨 다음 상층액을 제거하고 생리적식염수로 희석하였다. 또한 clumps 를 제거하기 위하여 800 rpm 으로 5분간 遠心시킨 浮遊液을 2×10^8 CFU/ml 되게 浮遊시킨 다음 4°C 냉장고에 보관 사용하였다.

實驗動物 및 菌接種 : tuberculin skin test 음성인 2 개월 된 雜種豚으로서 BCG 와 *M. smegmatis* 그리고 *M. avium* 의 菌浮遊液 0.4ml 를 각각 皮下接種하였으며 各實驗群을 돼지 2마리씩으로 하였다.

淋巴球培養 : 菌接種 2개월 후에 金³¹⁾의 方法으로 heparin(Ricker Lab.) 1,000 단위와 phytohemagglutinin-M.(Difco Lab.) 0.2ml(40 μ g)를 주사기에 넣어 處理豚의 頸靜脈에서 각각 血液 10ml 를 採血하여 충분히 혼합한 다음 screw-capped tube 에 넣어 incubator 에 30분~1 시간 靜置한 후 毛細 피펫으로 buffy coat layer 를 吸引 채취하였다. 이렇게 하여 얻은 血漿에는 많은 白血球와 少量의 赤血球가 함유되어 있는데 細胞數가 1×10^6 /ml 되게 autologous plasma 로 희석하여 medium-199(Gibco)를 同量 加한 다음 pH 를 6.8~7.0으로 조정하고 penicillin 과 streptomycin 을 각각 150unit/ml, 5 μ g/ml 의 비율로 加하였다. 이같은 배양액 2ml 씩을 cover slip 이 들어있는 시험관(200 mm \times 16mm)에 分注하여 37°C incubator 에 배양하였다.

細菌接種 : 3일간 배양된 세포에 BCG 를 약 10 bacilli/cell 의 비율로^{12, 13)} 接種하였고 이에 시험관내의 배지는 autologous plasma 가 배양액의 30%가 되게 하여 接種전에 배지를 교환하였다

PPD 첨가 : 上記의 淋巴球培養法에 의해서 얻어진

細胞에 PPD(tuberculin purified protein derivative, 安養 家畜衛生研究所 製造)를 細胞 10⁶/2ml 당 50 μ g 을 각각 첨가하여 經時的으로 淋巴球의 transformation rate 를 관찰하였다.

Tuberculin 反應: Tuberculin 反應은 자 실험동물 群에 菌接種 6주일이 경과한 후 tuberculin(heat concentrated synthetic medium tuberculin derived from bovine strain) 100,000TU/ml 원액을 0.5% 石炭酸으로 2배 희석하여 0.1ml 를 耳根部皮內에 注射하고 48 시간 및 72시간 경과한 후 接種부위의 紅斑의 지름과 硬結을 관찰하므로써 지름이 5mm 이상이며 硬結이 있거나 發赤이 있는 경우 陽性으로 간주했다.

Leukocyte Migration Test: 이 시험은 Calder 등⁵⁾과 Kostiala¹⁶⁾의 方法을 보완 실시하였다. 즉 *M. avium*, *M. smegmatis*, 그리고 BCG 로 각각 感作된 實驗動物인 돼지의 頸靜脈으로부터 heparin 處理(10 unit/ml) 된 血液을 採血하여 37°C, 1~2시간 靜置한 다음 淋巴球가 다량 함유된 血漿을 얻어 150 g 로 10분간 遠心分離하고 medium 199로 3회 洗滌하였다. 이때 赤血球의 混入이 있을 경우 ammonium chloride(0.84%)로 5분간 처리하여 赤血球를 破壞시켜 다시 medium 199로 3회 洗滌하였다. 이같이 하여 洗滌된 細胞를 10% 正常豚血清에 부유시켜 길이 75mm 內經 1.1~1.2 mm의 毛細 유리관에 이를 채우고 한쪽 끝을 火燬으로 밀착시킨 다음 150 g 로 5분간 遠沈하여 充填된 細胞層과 液體와의 境界부를 精確하게 切斷, 이것을 migration chamber(內經 16~20mm 길이 20mm)의 底面에 silcon grease 로 固定하였다. 培養液은 medium 199에 penicillin 150unit/ml와 streptomycin 15 μ g/ml 를 첨가하여 10%의 tuberculin 陽性 健康豚의 血清을 加하여 2ml씩 分注하였고, 各處理群 共히 抗原인 PPD 를 15 μ g/ml, 25 μ g/ml 그리고 35 μ g/ml 까지 양을 달리하여 滴下한 다음 cover glass 로 密封, 37°C, 24시

간 培養한 후 細胞의 migration 阻止程度를 관찰하였다.

觀察: PPD 첨가후 3일간 培養한 淋巴球內 細菌의 侵入像의 관찰을 細菌接種 6시간만에 1회, 다음은 24시간 간격으로 3일간 각 시험관으로부터 cover slip 를 꺼내어 Ziel-Neelsen 法에 의하여 染色한 후 각 cover slip 上에 있는 500個의 細胞를 기준으로 細菌의 細胞內 侵入像을 관찰하였다. 淋巴球의 transformation rate 의 관찰은 시험관에서 cover clip 를 꺼내어 Giemsa 染色 다음 各菌種에 感作된 細胞別로 抗原인 PPD 에 얼마나 特異的으로 刺戟하여 DNA 合成이 이루어졌는가를 形態學的으로 관찰하였다. Migration test의 관찰은 배양 24시간 후 migration test chamber 를 incubator에서 꺼내어 毛細 피펫으로 조용히 배양액을 제거한 다음 25배와 50배로 확대 관찰하였다.

結 果

各實驗群, 즉 N群(正常群), B群(BCG 接種群), A群(*M. avium* 接種群) 그리고 S群(*M. smegmatis* 接種群) 상호간에 있어서 tuberculin 反應과 migration test, PPD 를 첨가한 培養細胞內 細菌의 侵入像, 그리고 抗原 PPD의 刺戟에 의한 淋巴球의 transformation rate 등의 結果는 다음과 같다.

Tuberculin 皮內及應과 Migration Test: 接種 2개월 경과한 후 tuberculin 皮內反應 結果와 leukocyte migration test 와의 비교는 第1表와 같다.

Tuberculin 接種 48시간이 경과한 후 관독한 所見은 對照群인 N群을 제외하고는 反應部位의 지름, 發赤狀態 및 硬結度 등에 있어서 輕微한 差異는 있었으나 判定基準에 충분한 反應을 나타내 주었으며 migration test에 있어서는 PPD의 첨가량에 따라 현저한 差異를 보여 주고 있다. 즉, PPD 15 μ g/ml 첨가에서는

Table 1. Tuberculin Skin Test and Leukocyte Migration Test

Case of Number	Samples Examined	Skin Test (Diameter)	Lymphocyte Migration Test				
			Non-PPD	50 μ g-PPD	50 μ g-PPD	70 μ g-PPD	
Group N	2	9	0~2mm	卅	卅	卅	卅
Group A	2	9	13~20	卅	卅	±	—
Group B	2	9	10~20	卅	卅	±	—
Group S	2	9	9~13	卅	卅	卅	卅

—: Migration inhibited, ±: Variable migration inhibited, +: Migration, ++: Fair migration, 卅: Good migration

全然 첨가하지 않은 경우와 migration의 넓이에 있어서 약간의 差異를 발견할 수 있었으나 25 μ g/ml에서부터는 A群과 B群에서 阻止作用이 일어나, 35 μ g/ml에서는 뚜렷한 migration 阻止作用이 일어났음을 알 수 있었으며 第3圖와 第1表에서 보여주는 바와 같다. 結果의으로 PPD에 特異적으로 作用한 A群과 B群은 소위 migration inhibition factor에 의하여 migration이 阻止되었으며 對照群인 N群은 물론 S群에서도 PPD와의 抗原關係가 거의 特異적이 못됨을 알 수 있었다.

Lymphocyte Transformation Rate: A群, B群, S群 그리고 N群에 대하여 PPD 첨가와 첨가하지 않는 系列로 나누어 lymphocyte transformation rate를 經時的으로 관찰하여 各群을 比較하여 본 結果, 第1圖와 같다. 즉 各群別 分散分析結果 PPD 處理群과 非

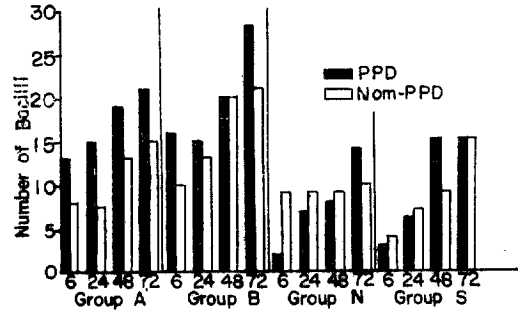


Fig. 2. Average number of tubercle bacilli infected within cell derived from pigs vaccinated with *M. avium*, BCG, *M. smegmatis* and control, with and without additional PPD.

處理群에 있어서 N群과 S群은 有意성이 없었으며 A群과 B群에 있어서는 有意성은 認定되나 (A群: $P < 0.05$, B群: $P < 0.1$) 高度의 有意성은 없었다.

細菌(BCG) 感染率: Phytohemagglutinin과 PPD를 첨가하여 培養 3日제의 各群別 細胞에 BCG를 接種하여 細胞의 細菌에 대한 低抗性의 有無를 검토한 결과 意義있는 所見을 발견할 수 없었으며 다만 抗原 PPD에 대한 細胞의 blast化가 촉진되어 細菌의 侵入과 增殖이 용이하였음을 보여주어, 소위 細胞로 하여금 抗原刺戟에 의한 권역물질의 합성은 細胞를 억제할 정도는 아님을 알 수 있었다. 各群別 細胞培養日數에 따르는 細胞內 細菌增殖像은 第2圖와 같다.

考 察

結核에 대한 生體 및 試驗管内 反應의 많은 연구가 이루어져 왔다. 그러나 結核에 있어서 交叉反應試驗은 *Mycobacterium*과 相異한 菌種인 *Salmonella*, *Brucella* 및 *Listeria*를 대상으로 하였을뿐^{12,13)} 同一한 *Mycobacterium*屬의 菌種, 특히 atypical *Mycobacterium*에 관해서는 최소한 편이라고 하겠다.

金 및 李³²⁾는 atypical *Mycobacterium*인 *M. smegmatis*와 BCG에 感作된 循環血液 淋巴球를 이용하여 同一抗原에 대한 細胞反應을 시험관 내에서 관찰 보고한 바 있다. 結核診斷에 있어서 tuberculin反應을 同一한 *Mycobacterium*屬의 菌種에 대하여 各群의 差異 없이 陽性反應을 나타내고 있으나 細胞의 시험관내 反應 즉 各菌種別로 感作된 淋巴球의 transformation에 있어서, 抗原에 대한 特異的 反應 結果는³²⁾ 本實驗에서와 同一하였음을 알 수 있었다. 그러나 이같은 反應

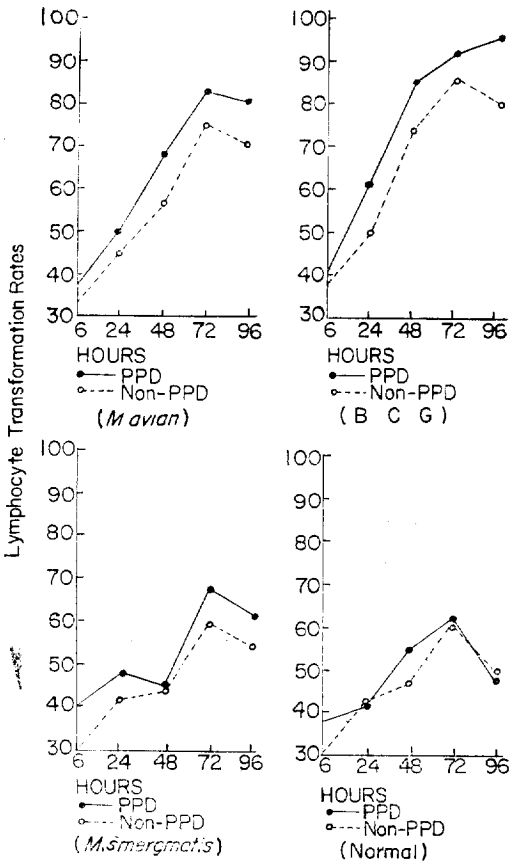


Fig. 1. Transformation rate of lymphocytes derived from pigs vaccinated with BCG, *M. avium* and *M. smegmatis* with and without additional PPD.

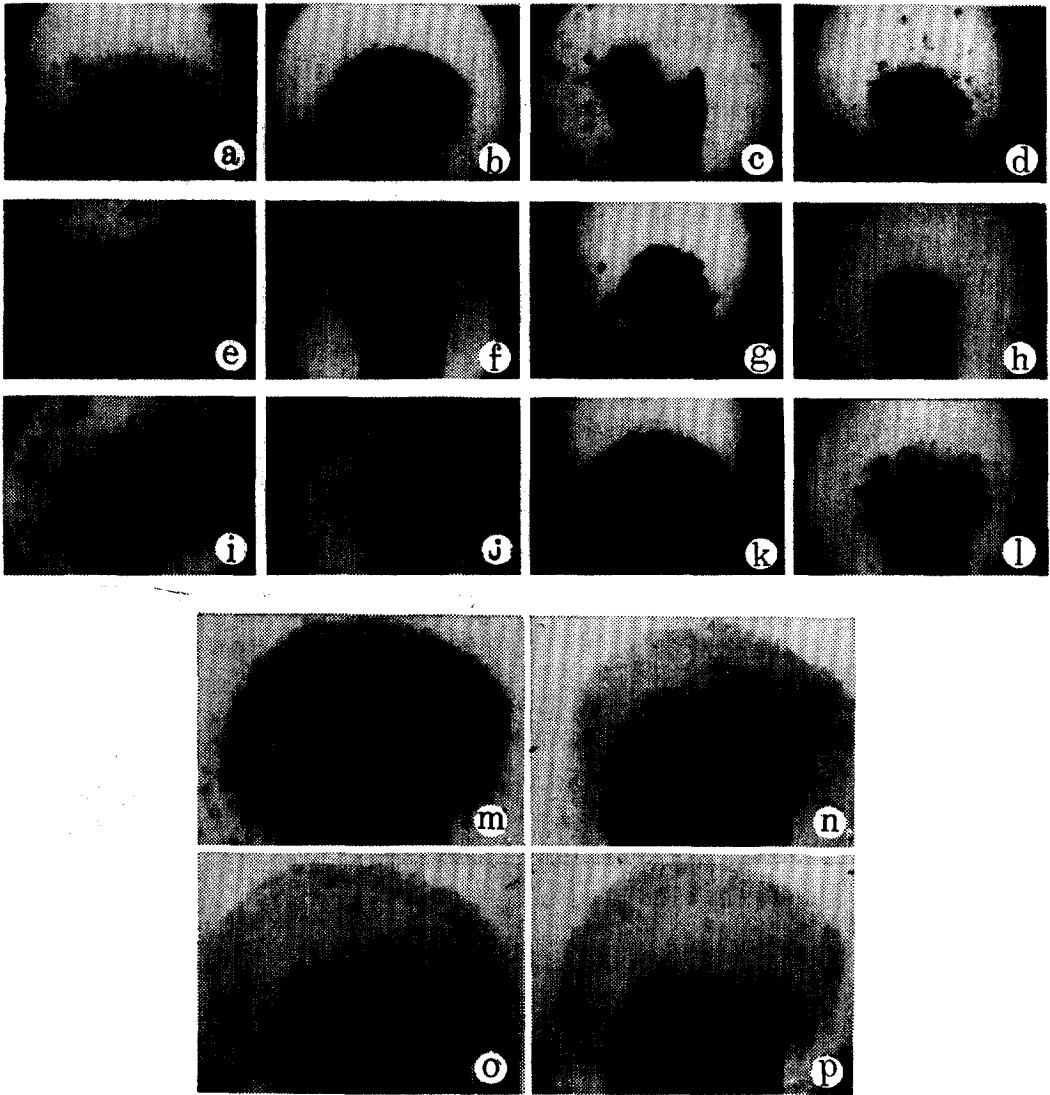


Fig. 3. The lymphocyte migration test of each experimental.

Photographs of migration chambers showing the extents of migration according to the amount of PPD. Magnitude $\times 25 \sim \times 50$. (a)~(d): *M. avium* vaccinated cells initiating the inhibition of migration by the presence of $15 \mu\text{g/ml}$ PPD. (a) cells migration in normal media, (b) cells in the presence of $15 \mu\text{g/ml}$ PPD (slight inhibited), (c) cells in the presence of $25 \mu\text{g/ml}$ PPD (clear inhibited), (d) cells in the presence of $35 \mu\text{g/ml}$ PPD (total inhibited). (e)~(h): BCG-vaccinated cells initiating the inhibition of migration by the presence of $15 \mu\text{g/ml}$ PPD. (e) cells migration in normal media, (f) cells in the presence of $15 \mu\text{g/ml}$ PPD (slight inhibition), (g) cells in the presence of $25 \mu\text{g/ml}$ PPD (clear inhibition), (h) cells in the presence of $35 \mu\text{g/ml}$ -PPD (total inhibition) (i)~(l): *M. smegmatis*-vaccinated cells in initiating the inhibition of migration by the presence of $15 \mu\text{g/ml}$ PPD. (i) cells migration in normal media, (j) cells in the presence of $15 \mu\text{g/ml}$ PPD (slight inhibition), (k) cells in the presence of $25 \mu\text{g/ml}$ PPD (slight inhibition), (l) cells in the presence of $35 \mu\text{g/ml}$ PPD (slight inhibition). (m)~(p): Normal non-vaccinated cells not initiating the inhibition of migration by the presence of PPD ($15 \mu\text{g/ml}$, $25 \mu\text{g/ml}$, $35 \mu\text{g/ml}$).

試驗은 形態學的으로 관찰하였을 때 正確性을 기대하기 어려운 실정이어서 著者は 細胞免疫學에서 널리 이용되는 lymphocyte migration test 를 이용, PPD 抗原에 대한 Mycobacterium 의 몇가지 菌種에 感作된 循環血液淋巴球의 migration 阻止 정도를 비교관찰하였다.

BCG 와 *M. avium* 과 atypical Mycobacterium 인 *M. smegmatis* 와는 第1表와 第3圖에서 보여준 바와 같이 tuberculin 反應에서는 同一한 陽性結果이었으나 PPD 의 첨가량에 따르는 淋巴球의 migration 의 阻止程度는 현저한 차이를 초래하고 있다. Kostiala¹⁶⁾ 가 guinea pig 의 腹腔內에서 얻은 macrophage 를 이용한 migration test 에서는 PPD 의 量이 25 μ g/ml 로서도 充分하였지만 本實驗에서는 25 μ g/ml 에서 비로소 阻止反應이 나타나 35 μ g/ml 에서 完全阻止가 되어 最適值로 간주할 수 있었다 함은 Mitchell 등²⁰⁾이 淋巴球를 사용한 結果와 같았다.

이는 使用된 細胞가 macrophage 가 아닌 淋巴球이었다는 데도 部分的인 原因이었다고 생각된다. Yoshida 등²⁰⁾은 血清含量이 濃厚한 培養液일수록 migration 이 활발하다 하였으며 Nelsen 및 Leu²¹⁾은 循環血液의 淋巴球라 할지라도 macrophage 가 混合되어 있으므로 migration inhibition factor 의 產生이 이루어지며 최소한 5% 정도의 macrophage 의 存在를 주장하였고 Fimmel¹⁴⁾은 T-cell 이 B-cell 보다 더 많이 細胞免疫에 關여한다고 하였다.

Tuberculin 反應이 強하게 나타났다고 할 때 적은 量의 PPD 일지라도 阻止作用이 일어난다고 하는²⁰⁾ 사실을 감안할 때 PPD 의 量은 一定한 條件에서만이 決定될 수 있으며 野外試驗에서는 여러 단계의 量의 차이를 두고 함이 타당하다고 생각된다.

抗原으로서 PPD 를 첨가 3일간 培養한 細胞에 BCG 를 접종 6시간 후부터 3일간 관찰한 結果 細胞의 感染率이 Fong 등¹⁹⁾보다 全體的으로 높은 것은 感染前에 이미 PHA 와 PPD 에 의해서 3일간에 培養되었기 때문에 lysosome 이 出現하여³¹⁾ 細胞膜의 透過性을 높혀 주었기 때문이라고¹⁷⁾ 생각되며 macrophage 가 아닌 淋巴球를 사용한다 해도 그 原因을 들 수 있었다.

第2圖에서 보여주는 바와 같이 A群이나 B群은 PPD 에 대하여 더욱 特異的인 상태하에서 刺戟되어 細胞의 transformation 이 활발하였기 때문에 細菌의 感染率에 있어서 A群, B群과 S群 N群 사이에는 그 차이를 보여주고 있는 것으로 생각되는 바이다.

淋巴球가 試驗管內에서 3일간 培養된 후에는 完만한

transformation 을 보이는 것이 一般的인 傾向이나⁸⁾ 感作된 細胞에 抗原으로 刺戟하면 transformation 이 급속히 이루어진다고 한다.^{19,27)} 그러나 本實驗에 있어서 BCG, *M. avium* 그리고 *M. smegmatis* 로 기왕 免疫시킨 돼지 細胞에 PPD 를 첨가하였을 때 B群과 A群은 急速한 transformation rate 를 보여준데 반하여 atypical Mycobacterium 인 *M. smegmatis* 와 對照群인 N群은 完만한 傾向을 보여주었다는 사실로 미루어 보아 당초에 免疫시킨 菌株에 따라 淋巴球反應이 左右된다는 Nelson 등¹⁸⁾의 意見을 認定할 수 있었다.

結論的으로 生體 tuberculin 皮內反應에서는 非特異的인 反應率이 높음에 比하여 試驗管內에서는 特異的인 反應을 보였고 또한 tuberculin 皮內反應 實施時 tuberculin 이 被檢體內 相當期間 殘存하고 있기 때문에 再次診斷을 하는데 많은 影響을 받으나, 시험관내 診斷에는 影響을 받지 않으므로 診斷 時期나 反復實施에 구애됨이 없다는 몇가지 長點을 들 수 있었다.

結 論

1. 乳牛의 結核診斷에 있어서 tuberculin test 는 널리 應用되고 있는 診斷法이지만 우리나라에 있어서 tuberculin 陽性을 나타내어 菌種間에 하등의 差異을 볼 수 없었다.
2. 3種의 抗酸性菌으로 接種된 仔豚의 循環血液의 淋巴球를 利用한 migration inhibition test 에 있어서 A群과 B群 모두 15 μ g PPD/ml 첨가에서 가벼운 阻止反應을 보여주기 시작하여 25 μ g PPD/ml 와 그 이상의 첨가에서 모두 거의 完전한 阻止反應을 보여주었고 非病原性인 S群에 있어서는 15 μ g PPD/ml 첨가에서 가벼운 阻止反應을 보였을 뿐 그 이상의 PPD 첨가에 대하여 하등의 阻止反應을 보이지 않았다.
3. PPD 處理 組織培養에서 淋巴球의 transformation rates 는 S群과 對照群인 N群에 있어서 PPD 處理나 無處理에 關係없이 하등의 有意性을 찾아 볼 수 없었고 LSD 檢定結果 A群과 B群은 N群과 S群에 비하여 다소의 有意性이 인정되었다. (A群 : $p < 0.05$, B群 : $p < 0.1$).
4. 細胞培養 3日째 만에 接種한 bacilli (BCG) 의 淋巴球內 感染率은 A群, B群에서는 높은 感染率을 보였으나 細胞變性率에는 별다른 影響이 없었고 N群, S群에서는 bacilli 의 感染率은 저조하였으나 接種 3日째부터는 심한 細胞의 變性率을 보여주었다.

參 考 文 獻

1. Bert, G., Cossano, D.L. and Pecco, P.: The deflection by cellular electrophoresis of surface antibodies on human lymphocytes. *Clin. Exp. Immunol.* (1969) 11 : 669.
2. Brostoff, J. and Walker, J.G.: Leucocyte migration inhibition with kvein antigen in crohn's disease. *Clin. Exp. Immunol.* (1970) 9 : 907.
3. Buckley, C.E. and Trayer, H.R.: Serum IgD concentration in sarcoidosis and tuberculosis. *Clin. Exp. Immunol.* (1972) 10 : 257.
4. Buckley, C.E. and Cate, C.C.: The effect of lung reactive antibodies on the pathogenesis of tuberculosis. *Clin. Exp. Immunol.* (1971) 9 : 803.
5. Calder, E.A., Mcleman, D., Barnes, E.W. and Irvine, W.J.: The effect of thyroid antigens on the in vitro migration of leucocytes from patients with hashimoto thyroiditis. *Clin. Exp. Immunol.* (1972) 12 : 429.
6. Chaparas, S.D., Hedrick, S.R., Clark, R.G. and Garman, R.: Comparison of the lymphocyte transformation test with the tuberculin test in Rhesus monkeys and chimpanzees. *Am. J. Vet. Res.* (1970) 31 : 1437.
7. Dasgupta, A.: Immune deviation: Demonstration of split tolerance in vitro by inhibition of Macrophage migration. *Clin. Exp. Immunol.* (1971) 8 : 173.
8. Downey, H.: Cultures of the cells of the blood. *Handbook of hematology* (1960).
9. Falk, R.E., Collste, L. and Moller, G.: In vitro deflection of transplantation immunity: The inhibition of migration of immune spleen cells and peripheral blood leukocyte by specific antigen. *J. Immunol.* (1970) 104 : 1287.
10. Ferraresi, R.W., Dedrick, C.T., Raffel, S. and Gohman, Y.M.: Studies of the macrophage inhibition test. *J. Immunol.* (1959) 162 : 852.
11. Fimmel, P.J.: Studies on leukocyte migration inhibition: The role of E rosette forming in specific antigen-induced inhibition of migration. *J. Immunol.* (1975) 115 : 135.
12. Fong, J., Akiyama, H.J., Chin, D. and Elberg, S.S.: Conditions affecting the action of serum and cells modification of bacilli in an immune system. *J. Exp. Med.* (1959) 109 : 523.
13. Fong, J., Schneider, P. and Elberg, S.S.: Studies on tubercle bacilli-macrophage relationship. *J. Exp. Med.* (1957) 105 : 25.
14. Han, T. and Pauly, J.: Simplified whole blood method for evaluating in vitro lymphocyte reactivity of laboratory animals. *Clin. Exp. Immunol.* (1972) 111 : 137.
15. Kaltreider, H.B., Soghor, D., Taylor, J.B. and Decker, J.L.: Capillary tube migration for detection of human delayed hypersensitivity: Difficulties encountered with buffy coat cells and tuberculin antigen. *J. Immunol.* (1969) 103 : 179.
16. Kostiala, A.A.I.: Delayed hypersensitivity in the guinea pig immunized with killed tubercle bacilli in adjuvant. *Acta. Path. Microbiol. Scand. Section B* (1971) 79 : 275.
17. Lympert, I.M. and Toder, V.A.: The study of the acid phosphate of macrophageal lysosomes in delayed-type hypersensitivity. *Clin. Exp. Immunol.* (1971) 8 : 815.
18. Melson, D.S., Margaret, N., Thorston, J.M., Waters, M.F.R. and Pearson, J.M.: Phytohemagglutinin-induced lymphocyte transform in leprosy. *Clin. Exp. Immunol.* (1971) 9 : 33.
19. Mitchel, C.F., Miller, J.F. and Miller, A.P.: Immunology activity of thymus and thoracic-duct lymphocytes. *Pro. Natl. Acad. Sci.* (1968) 59 : 115.
20. Mitchell, C.G., Smith, M.G.M. and Golding, P.L.: Evaluation of the leucocyte migration test as a measure of delayed hypersensitivity in man. *Clin. Exp. Immunol.* (1972) 11 : 535.
21. Nelson, R.D. and Leu, R.W.: Macrophage requirement for production of guinea pig migration inhibitory factor (MIF) in vitro. *J. Immunol.* (1975) 114 : 806.
22. Ortiz, L.O., Zamacona, G., Garmilla, C. and Arellano, M.T.: Migration inhibition test in

- leukocytes from patients allergic to penicillin. *J. Immunol.* (1974) 113 : 993.
23. Renlov, P. and Hardt, F.: In vitro evaluation of cell-mediated immunology in mice. *Clin. Exp. Immunol.* (1971) 8 : 163.
24. Rosenberg, S.A. and David, J.R.: Inhibition of leukocyte migration: An evaluation of this in vitro assay of delayed hypersensitivity in man to a soluble antigen. *J. Immunol.* (1970) 105 : 1447.
25. Schellekens, P.Th.A. and Eijvoogel, V.P.: Lymphocyte transformation in vitro. *Clin. Exp. Immunol.* (1971) 8 : 187.
26. Schellekens, P.Th.A. and Eijvoogel, V.P.: Lymphocyte transformation in vitro. *Clin. Exp. Immunol.* (1970) 7 : 229.
27. Smith, J.L. and Barker, C.R.: Antigen release from insoluble polymer complexes by lymphocyte cell suspensions. *Clin. Exp. Immunol.* (1971) 9 : 869.
28. Waithe, W.I., Hathaway, P. and Hirschhorn, K.: Protein synthesis in stimulated lymphocytes. *Clin. Exp. Immunol.* (1971) 9 : 903.
29. Weir, D.M. and Suckling, D.E.J.: Macrophage migration inhibition induced by tissue antigen in guinea-pig. *Clin. Exp. Immunol.* (1971) 8 : 791.
30. Yoshinda, T., Edelson, R., Cohen, S. and Green, I.: Migration inhibitory activity in serum and cell supernatants in patients with sezary syndrome. *J. Immunol.* (1975) 114 : 915.
31. 金鍾冕 : *Toxoplasma gondii* 의 組織培養에 관한 研究. 大韓獸醫學會誌 (1973) 13 : 67.
32. 金鍾冕, 李正鎬 : BCG 와 *M. smegmatis* 로 感染을 일으킨 돼지에 있어서의 試驗管內淋巴球의 反應. 全北大學校 農大論文集 (1974) 5 : 37.

Experimental Studies on Differential Diagnosis of Non-pathogenic Lesion Dairy Cattle with Positive Tuberculin Reaction

Jong Myeon Kim, D.V.M., Ph.D.

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Jeonbuk National University

Abstract

The tuberculin test have been widely utilized to diagnose tuberculosis of the dairy cattle. It was reported that approximately 70% of the dairy cattle with positive tuberculin reaction in Korea had been non-pathogenic lesion. So the studies on the specific method to diagnose tuberculosis of them is really need in Korea. Therefore this study investigated upon the diagnostic method for cattle tuberculosis in the aspect of cellular-immunology.

The results obtained in this investigation are summarized as follows:

1. All the tuberculin tests to the swine inoculated with BCG. (B group), *Mycobacterium avium* (A group) and *Mycobacterium smegmatis* (S group), respectively, were represented high positive reaction and were no differences in the species of inoculated bacteria.

2. In the migration inhibition test using lymphocyte in circulating blood of the swine inoculated with three species of acid-fast bacteria respectively, the test to A group was represented slight positive for migration in the presence of 15 μ g/ml-PPD and the other reaction were clear and total positive for migration inhibition in the presence of 25 μ g/ml-PPD or more, and the test to B group was the same results as to A group approximately.

The test to S group was represented slight positive for migration inhibition in the presence

of 15 μ g/ml-PPD, but the results were the same in the presence of 25 μ g/ml-PPD and 35 μ g/ml-PPD. These results showed that there were remarkable differences between group A, B and group S in the presence of 25 μ g/ml-PPD and 35 μ g/ml-PPD.

3. The transformation rates of lymphocyte in PPD treated tissue culture had no significance without any relation between PPD treatment and non-treatment but A group and B group showed significance. And A group and B group showed high significance in comparison with N group and S group in the LSD examination.

4. The infection rated in lymphocyte of BCG inoculated after 3 days tissue culturing were represented those of high infection but its cellular degeneration rates almost did not change. The infection rates in bacilli in N group and S group were low but after 3 days inoculation it showed higher cellular degeneration.