牛型結核에 關한 疫學的調查 및 細菌學的研究

(第Ⅲ報) 國內 酪農場 土壤에서의 抗酸菌調查와 Tuberculin 陽性乳牛에서 檢出된
各種 抗酸菌感作 Guinea pig 에 對한 各種 Tuberculin 의 Cross-
Reaction에 關한 實驗

建國大學校 畜產大學獸醫學科

李 元 暢 · 李 康 郁

大韓結核協會 結核研究院

金 成 鎮 · 李 圭 正

—Abstract—

Epidemiological and Bacteriological Studies of Bovine Tuberculosis in Korea

W. C. Lee, Ph. D. & K. W. Lee, M. S.

Dept. Vet. Med., College of Animal Husbandry, Kon-kuk University

S. C. Kim, M. D., D. Sc. & K. J. Lee

The Korean Institute of Tuberculosis, K. N. T. A.

(Report III)

A) Mycobacteria Isolated from Ranch Soils.

A study was carried out on the isolations of mycobacteria from 33 samples which were collected from 13 ranches in Kyong-gi Province.

Results obtained were as follows.

(1) Twenty-six isolates from 33 soil samples were classified according to Runyon's Schema; 10 strains or 38.5% were Group II scotochromogens, seven or 26% were Group III nonchromogens and nine or 34.6% were Group IV rapid growers.

(2) The ten strains of Runyon Group II were subdivided into six strains of *M. scrofulaceum* and four strains of *M. gordonae* which were 23.1% and 15.4% respectively of the 26 total strains isolated.

The seven strains of Runyon Group III were subdivided into three strains of *M. terrae* complex, One strain of *M. gastri* and three unidentified which were 11.5%, 3.9% and 11.5% respectively of the 26 total strains isolated.

B) Cross-Reaction between Specificity of Tuberculins Prepared with Various Mycobacteria Isolated from Tuberculin Reactive Dairy Cattle.

Guinea pigs were sensitized by the strains isolated from tuberculin reactive dairy cattle and were observed for cross reactions using the following tuberculins:

(1) Heat Concentrated Synthetic Medium tuberculin for human and bovine types.

(2) Tuberculin prepared by a modification of the Old Tuberculin Method for *M. terrae* complex,

M. intracellulare (Battey), M. gordonae, and M. fortuitum.

(3) U.S. Standard Tuberculin, O.T., for the same strains as listed under number 2.

Judging from the results of skin tests, the degree of heterologous reactions was as high as that for the homologous reactions.

Therefore it is questionable whether or not accurate discriminations can be made between bovine tuberculosis and other mycobacterial infections, using conventional tuberculin.

I. 緒 論

Robert Koch의 "Koch lymph"(Old Tuberculin)에 관한 報告¹⁾가 1890年度에 있는後, 우리나라에서도 일찌기 1913年以來 牛結核의 診斷法으로 Tuberculin test를 實施 絶對的인 方法으로 評價받아 왔다^{2, 3, 4)}.

그러나 外國의 경우 當初의 特異性과는 달리 Hastings⁵⁾, Bruner⁶⁾ 및 Hagan⁷⁾ 등은 Tuberculin 陽性牛에서 所謂 No-visible-lesion reactor(無病巢 結核反應)라고 하여서 剖檢上(Postmortem) 全然 結核病變을 發見할 수 없는 例가 있어, Tuberculin 自體의 特異성에 疑意를 품게 되었다.

近來에 와서 國內에선 1961年度 부터 Sauton 培地를 利用하여 만든 Heat Concentration Synthetic Medium Tuberculin(以下 H.C.S.M.T.로 略함)을 生産, 이것을 Single Intradermal Test(S.I.D.)로 家畜의 結核診斷에 使用, 陽性乳牛를 檢索하고 있는데⁸⁾, 最近에는 No-visible-lesion reactor의 發現率이 1966~1969年 사이에 39.7~43.7%나 續出하고 있으며⁹⁾, 本研究者들의 調査에 依하면⁴⁾, 1971年度 Tuberculin 陽性으로 判定 屠畜된 14頭의 乳牛를 對象으로 Mycobacteria의 分離를 試圖하였던 바 14頭牛 64.3%에 해당하는 9頭에서 만이 Atypical Mycobacteria가 檢出되었을 뿐, 기대 하였던 Mycobacterium bovis는 發見치 못한 No-visible-lesion reactor이었다.

이에 著者들은 所謂 No-visible-lesion reactor들의 損失을 막고, 感染 Acid-Fast Bacilli(以下 A.F.B.로 略함)의 感染源을 糾明코자 하여 研究를 試圖하고, Tuberculin 陽性乳牛 發生, 酪農場의 位置別, 土壤에서 A.F.B.를 調査分離, 土壤과 乳牛間의 Cross-infection을 糾明하고, 또한 1971年度 Tuberculin 陽性乳牛에서 檢出된 各種 A.F.B.를 Guinea Pig에 感作시킨후 이에 試劑의 各種 Tuberculin(Antigen)을 接種 Cross-reaction을 觀察하였다.

II. 實驗材料 및 方法

(I) 土壤에서의 A.F.B. 分離

Table 1. Collection of soil samples

Area of collected samples	Item	Total samples	Sources		
			stall	Rest park	Pade-lok
①	K.K.R.	3	1	1	1
②	An-song H.D.R.	2	1	0	1
③	Pyong-taek H.N.R.	3	1	0	1
④	Seoul, T.I.R.	3	1	1	1
⑤	" M.Y.R.	3	1	1	1
⑥	" M.S.R.	3	1	1	1
⑦	" K.S.R.	3	1	1	1
⑧	Ko-yang, S.W.R.	3	1	1	1
⑨	" B.K.R.	2	1	1	0
⑩	Yang-Ju, S.W.R.	3	1	1	1
⑪	" M.G.R.	1	1	0	0
⑫	" K.D.R.	2	1	1	0
⑬	Hwa-song, S.A.R.	3	1	1	1
Total		33	13	10	10

Remarks: ① is Control Ranch

(A) 實驗材料

1971年度 Tuberculin 陽性 乳牛가 發生된 酪農場中 Table 1에서 보는 바와 같이 13個所를 對象으로 1972年 4月 2일부터 5月 15일까지 사이에 各酪農場의 畜舍, 運動場 및 放牧場에서 總 33點의 土壤을 收集하였으며, 이의 採取은 地表로부터 約 1cm 아래의 表土를 金等 이 한 方法¹⁰⁾에 따라 位置別로 區分하여 Sampling하였다.

(B) 菌分離 및 同定¹¹⁻²³⁾

土壤 2 spatulas를 1 oz screw cap bottle에 넣고 滅菌 Distilled water를 20ml씩 加해서 15分間 Vortex mixer로 振盪하여 5分間 定置하여 두었다가 粗大한 粒子가 沈澱한 다음 上清液 10ml을 取해서 遠心管(50

ml)에 넣고 hydroxide-hypochlorite 용액(2% NaOH: Sodium hypochlorite(5~6% Chlorine)의 6:1 혼합액)을 동량으로 혼합하여,振盪한 다음 3,000 r.p.m.에서 15~20분간 遠心分離하여 上清液은 除去하고, 約 1ml 程度만 남긴 후 毛細 pipette 으로 沈澱物을 0.1ml 씩 Ogawa 및 Löwenstein-Jensen(以下 L-J로 略함) 培地에 各各 2本씩 接種 37°C에서 6週間 培養觀察 하였다.

培養期間中 얻은 各菌株은 Ziehl-Neelsen 法에 依한 染色으로 A.F.B. 與否 및 Cellular morphology 를 觀察하였고, 22°C, 37°C 및 42°C의 溫度域에서 發育與否 및 期間, 觸光呈色性(Photochromogenicity)등을 觀察하였다.

또한 生化學的 檢査方法으로 Catalase test(Semiquantitative 및 Heating in 68°C), Tween 80 hydrolysis test, NO₃ reduction, Sodium chloride tolerance Tellurite reduction, Arylsulfatase activity 및 Sensitivity to TCH(thiophen-2-carboxylic acid hydrazide)등을 觀察 하였다.

(2) 各種抗酸菌 感作 Guinea pig 에 對한 試劑 Tuberculin 의 Cross-reaction 에 關한 實驗

(A) 實驗材料

(a) 供試菌株

1971年度²³⁾ Tuberculin 陽性乳牛에서 分離된 A.F.B. 菌株中 Runyon group-Ⅱ인 *M. gordonae*(# 94), Group-Ⅲ의 *Mycobacterium terrae* complex(#17, # 58), Battey aviam(#13), Group-Ⅳ의 2株(*Mycobacterium fortuitum*(#52) 및 Rapid grower(#40) 등의 試菌株과 對照菌株로 *Mycobacterium tuberculosis*(H₃₇R, #102, Trudeau Lab., U.S.A.)와 *Mycobacterium bovis*(D-4, Trudeau Lab., U.S.A.) 菌株을 供試菌株로 使用하였다.

(b) 試劑 Tuberculin(Antigen)의 製造 및 效能을 보기 위하여 上記 (a)項의 供試菌株을 使用, Chaparas²⁵⁾의 方法을 參考하여 試劑 Tuberculin 을 製造하였다.

成熟한 Guinea pig(400~500gm(♂)에 4種의 A.F.B. 를 感作시킨 후 4週後에 背部兩側에 區分, 一片側에는 美國 N.I.H.의 Dr. Chaparas로부터 供與받은 標準 Sensition 가운데, Group-Ⅱ(*M. gordonae*), Group-Ⅲ(Battey) 및 Group-Ⅳ(*M. fortuitum*)等を 各各 0.1 ml(100μg/0.1ml)씩 接種하고, 反對側에는 試劑 Tuberculin 을 0.1ml 를 接種 24時間後에 Caliper(Fig. 2 參考)로 發赤을 測定 하였다.

(c) 供試動物

本實驗에 使用된 動物은 體重 400~500gm 의 雄性 Guinea pig Hartley strain 100匹를 實驗前 約 3週間을 同一條件下에서 飼育하여 異常有無를 細密히 觀察한 後에 實驗에 利用하였다.

(B) 實驗方法

各種供試菌에 感作된 81匹의 Guinea pig 를 4週, 8週 및 12週에 各各 菌株當 3匹씩 澤하여 背面兩側의 被毛를 拔毛하고 硫化 Barium 液을 使用 完全脫毛시킨 後에, 脊髓를 境界로 하여서 Fig. 1에서 보는바와 같이 左側에 4個所 右側에 3個所로 兩側 7個部位에 6種의 試劑 Tuberculin 과 對照로는 1種의 H.C.S.M. Tuberculin(家畜衛生研究所 製劑)를 26付의 Tuberculin 注射器로서 0.1ml 씩 正確하게 皮內接種한 後에 24時間과 48時間後에 發赤이 크기를 Fig. 2에서 보는 Caliper로서 從橫으로 測定하여 그 平均値를 求하였다.

Fig. 1. Tuberculin Inoculation Site for Guinea pig

Fig. 2. Caliper

Ⅲ. 成 績

(1) Tuberculin 陽性牛 發生 酪農場의 土壤에서 A. F. B. 調査

(A) 分離된 A. F. B.

1971年度에 서울特別市와 京畿道에서 實施한 結核乳牛 檢索에서 Tuberculin 陽性判定을 받은 바 있는 酪農場 中 12個所와 陰性判定을 받은 1個所의 牛舍, 運動場 및 放牧場의 土壤을 供試材로 하여 A. F. B. 를 分離檢出하였던 바, Table 3에서 보는 바와 같이 總供試 33件中 66.7%에 해당하는 26件에서 A. F. B. 가 分離 되었으며, 分離된 場所別 檢出率을 보면 放牧場의 土壤에서 總 26株의 檢出例에서 10株, 38.5%로 가장 많았으며, 다음 이 牛舍로서 34.6%(9株), 그리고 運動場이 26.9%로 7株 等々の 順으로 分離檢出 되었다.

또한 26株의 土壤에서 分離된 A. F. B. 를 Runyon's schema에 따라 分類하였던 바 Table 4에서 보는 바와 같이 Group-I (photochromogen)은 全無 하였고, Group-II (Scotochromogen)이 10 cases로서 38.5% Group-III (Nonphotochromogen)은 7 cases로 26.9% 그리고 Group-IV (Rapid grower)가 9 cases로서 34.6%이었다.

(B) 分離된 Acid-Fast Bacilli의 Species

酪農場의 各種土壤에서 分離된 A. F. B. 의 species를

Table 2. Comparison of Acid-Fast Bacilli Yielded by Source.

Total Tested Cases	Item Total No. of Soil Samples isolating A. F. B.	Yielded by Source		
		Stall	Rest park	Paddock
33	26 (100%)	9 (34.6%)	7 (26.9%)	10 (38.5%)

Table 3. Classification of Mycobacteria isolated from Soil of Ranch by Runyon's Schema

Runyonis grouping	Number of strains	per cent (%)
Runyon group-I (photochromogen)	0	0
Runyon group-II (scotochromogen)	10	38.5
Runyon group-III (Non chromogen)	7	26.9
Runyon group-IV (Rapid grower)	9	34.6

Table 4. Distribution of Acid-Fast Bacilli species by Extent of Soil Samples

Species	No & (%)	Yielded by Ranch
M. scrofulaceum	6 (23.1)	5 ^A 6 ^C 7 ^C 13 ^{BC}
M. gordonae	4 (15.4)	13 ^{AC}
M. terrae complex	3 (11.5)	7 ^B 9 ^A 12 ^B
M. gastri	10 (3.9)	4 ^B
M. fortuitum	9 (34.6)	13 ^{ABC} 5 ^{AB} 9 ^A 6 ^C 7 ^C
Unidentified	3 (11.5)	6 ^A 13 ^{BC}
Total	26(100%)	

A.....stall
B.....Rest park
C.....paddock

보면 Table 4에서 보는 바와 같이 Runyon group-II에 屬하는 Myc. scrofulaceum 6例로 23.1%, Myc. gordonae 4例로 15.4%, 다음 group-III에 屬하는 種으로는 Myc. terrae complex가 3例 11.5%와 Myc. gastri가 1例 3.9%이었고, Group-IV에 屬하는 種으로는 Myc. fortuitum 9例, 34.6%로서 亦是 Runyon Group-IV가 제일 많았으며, Unidentified case도 3例 11.5%가 있었다.

이를 다시 分離檢出 土壤集別로 分析하여 보면 Group-II의 Scotochromogen은 대개 牛舍와 放牧場에서 檢出例가 많고 Group-III의 Nonchromogen은 牛舍와 運動場에서, 그리고 Group-IV의 Rapid grower는 牛舍, 運動場 및 放牛場의 全地域에서 檢出되고 있어 興味 있는 結果이었다.

(C) Tuberculin 陽性乳牛와 酪農場의 土壤에서 檢出된 A. F. B. 間의 比較

學者들에 依하면 사람의 경우 人體에 分布하고 있는 未分類抗酸菌의 細菌學的性狀은 土壤이나 自然水와 같은 自然界에 널리 分布하고 있는 抗酸菌의 性狀과 類似한 點이 많다고 한다.

이같은 點에 着眼, Tuberculin 陽性乳牛 發生 酪農場의 土壤에 分布되고 있는 A. F. B. 와 Tuberculin 陽性乳牛에서 檢出된 A. F. B. 의 分布를 比較檢計 하였던 바, Table 6와 Fig. 3에서 보는 바와 같이 酪農場이나 정원흙(庭園土壤)과 밭흙(田土壤)에서 檢出되고 있는 A. F. B. 의 檢出率(%)이 대개 比等하며 또한 Tuberculin 陽性乳牛에서 分離檢出된 A. F. B. 가 이가운데 包含되고 있다.

Table 5. Comparison on Distribution rate (%) of *Mycobacterium* species among the Tuberculin Reactive Dairy Cattle and Soil Samples

Species	Comparison T. B. Reactive in Dairy Cattle	Yielded by Ranch	Garden Soil (5)	Farm soil
<i>M. scrofulaceum</i>	—	23.1%	10.1%	20.3%
<i>M. gordonae</i>	4.2%	15.4%	4.3%	8.5%
Bathey	4.2%	—	4.3%	5.1%
<i>M. terrae complex</i>	45.8%	11.5%	14.8%	23.7%
<i>M. gastri</i>	—	3.9%	8.7%	20.3%
<i>M. fortuitum</i>	29.1%	34.6%	34.6%	22.0%
Unidentified	16.7%	11.5%	—	—

Table 6. Comparison of tuberculin reaction between Experimental and Standard(NIH) Tuberculin.
(Redness size mm)

Tuberculin		M. gordonae	Battey	M. fortuitum	H. C. S. M. Tuber. ((An-yang))
Rouction	Inoculated with				
After 24hrs	M. gordonae	5.5/6.0	4.5/5.0	4.5/5.0	21.0
	Battey	6.0/5.0	5.0/5.5	4.5/5.0	11.0
	M. fortuitum	9.0/9.5	10.0/10.0	5.5/5.5	15.0
	M. bovis(D-4)	8.0/9.0	8.0/8.8	5.5/6.0	27.0
After 48hrs	M. gordonae	3.0/4.0	2.5/3.0	3.0/4.0	18.8
	Battey	3.0/2.5	5.0/5.5	2.0/2.5	13.0
	M. fortuitum	5.0/3.0	5.5/6.0	2.5/3.0	13.0
	M. bovis(D-4)	5.0/5.0	6.0/7.0	4.0/5.0	20.0

Remarks: Experimental Tub./Standard Tuberculin (U.S.N.I.H.)

Fig. 3. Comparison on Distribution Rate(%) of *Mycobacterium* spp. Among the Tuberculin Reactive Dairy Cattle and Various Soil Samples

(2) Tuberculin 陽性乳牛에서 檢出된 各種 A. F. B. 感作 Guinea pig 에 對한 試劑 Tuberculin의 Cross-reaction 에 關한 實驗

(A) 試劑 Tuberculin과 표준 Tuberculin(USNIH)의 反應比較

Table 6에 나타난 바와 같이 著者等이 試驗的으로 만든 Tuberculin(試劑 T)의 力價를 표준 Tuberculin(USNIH)과 比較한 結果 거의 一致한 成績을 얻었다.

(B) 感作菌種別 Homologous 및 Heterologous Tuberculin 間의 Cross-reaction 比較

1971年度 Tuberculin 陽性乳牛에서 分離된 A. F. B. 菌株中 Runyon group-Ⅱ인 *Myc. gordonae*(#94) Group-Ⅲ의 *Myc. terrae complex*(#17, #58) Bathey(#13) 그리고 Group-Ⅳ의 2種 *Myc. fortuitum*(#52)와 Other Rapid grower(#40)等の 試材菌株과 對照菌株로 *M.*

Table 7. Adjusted Heterologous Response Levels Per cent of Homologous Challenge(following 4 weeks)

Tuberculin Inoculated A. F. B.	M. gordonae	M. terrae Complex	M. terrae Complex	Batthey	M. fortuitum	Rapid grower (group-IV)	H. C. S. M. Tuber. (An yang)
M. gordonae	100.00	82.64	40.48	100.00	100.00	100.00	52.89
M. terrae Complex (#17)	62.96	100.00	39.16	19.24	44.15	48.55	32.23
M. terrae Complex (#58)	34.44	27.43	100.00	40.11	70.39	53.78	53.78
Batthey	24.93	32.11	11.11	100.00	44.48	24.93	53.78
M. fortuitum	46.18	53.40	48.44	58.62	100.0	75.68	234.47
Rapid-grower (Group-IV)	109.77	36.01	40.71	81.86	50.02	100.00	306.25
M. bovis (D-4)	7.45	2.09	3.12	6.60	4.35	10.31	100.00
M. tuberculosis (H ₃₇ R _v)	13.22	16.72	11.21	10.21	10.21	29.75	100.00

Remarks: Tuberculin reaction size(mm²)Table 8. Adjusted Heterologous Response Levels Per cent of Hemologous Challenge
(following 8 weeks)

Tuberculin Inoculated A. F. B.	M. gordonae	M. terra Complex (#17)	M. terrae Complex (#58)	Batthey	M. fortuitum	Rapid grower (Group-IV)	H. C. S. M. Tuber (An- yang)
M. gordonae	100.00	32.66	72.47	51.01	18.36	51.01	991.02
M. terrae Complex (#17)	51.01	100.00	18.36	73.47	32.66	18.36	130.64
M. terrae Complex (#58)	73.47	18.36	100.00	51.01	18.36	8.16	293.92
Batthey	60.49	19.75	44.45	100.00	30.85	44.45	316.07
M. fortuitum	100.00	56.21	56.21	100.00	100.00	100.00	877.79
Rapid-grower (Group-IV)	39.03	14.04	24.99	56.23	39.03	100.00	219.35
M. bovis (D-4)	17.80	6.40	11.39	17.80	6.40	11.39	100.00
M. tuberculosis (H ₃₇ R _v)	6.22	5.14	1.85	7.41	3.30	1.85	100.00

tuberculosis(H₃₇R_v)와 Myc. bovis(D-4)菌株를 供試菌株로 使用 Guinea pig의 各群에 感作시킨 후 4週와 8週에 前記의 A. F. B. 試劑 Tuberculin과 家畜衛生研究所의 H. C. S. M. Tuberculin을 Guinea pig 背部의 7個部位에 接種, 24時間後에 皮內反應을 Caliper로 測定하여 그 反應面積을 算出 Homologous Response를 基準(100)으로 하였을 때, 各 Heterogolous Challenge를 보면, Table 7에서 보는 바와 같이 感作 4週後の 경우, Myc. gordonae 感作에 對해 Heterogolous中 Batthey, Myc. fortuitum, Rapid grower 등은 比等한 Response이 있었고 其他는 떨어졌으며, Runyon Group-III의 Myc. terrae complex와 Batthey의 感作 2群에서는 共히 Homologous Response가 越等히 優勢하였다.

또한 group-IV의 Myc. fortuitum과 Other Rapid

Grower는 Homologous Response에 비해 Heterologous의 Myc. gordonae와 H. C. S. M. Tuberculin의 優勢한 Response가 있었는데, 特히 後者の H. C. S. M. Tuberculin 경우 Myc. fortuitum에서 234.47, Other Rapid grower에서 306.25의 Hypersensitivity가 있었다.

그리고 對照로 보았던 Myc. bovis(D-4)와 Myc. tuberculosis(H₃₇R_v)는 共히 Homologous Response가 越等하였다.

다음 感作 8週後の Tuberculin Response는 Table 8에서 보는바와 같은데, 4週에서의 경우와는 달리, 대개 몇例의 경우만을 除外하고 Hemologous Response가 H. C. S. M. Tuberculin의 Challenge만을 除外하고는 높은데, 特히 H. C. S. M. Tuberculin의 Response는

Table 9. Tuberculin Reactions in Guinea Pigs Sensitized with Various Species of Mycobacteria

		(Redness size in mm)					
Tuberculin Inoculated A.F.B.	M. gordonae	M. terrae complex (#17)	M. terrae complex (#58)	Batthey	M. fortuitum	Rapid-grower (Group-IV)	H. C. S. M. Tuber (An yang)
M. gordonae	11.0/7.0	10.0/4.0	7.0/6.0	11.0/5.0	11.0/3.0	11.0/5.0	8.0/22.0
M. terrae complex (#17)	12.3/5.0	15.5/7.0	9.7/3.0	6.8/6.0	10.3/4.0	10.8/3.0	8.8/ 8.0
M. terrae complex (#58)	10.0/9.0	7.0/3.0	15.0/7.0	9.5/6.0	12.5/3.0	11.0/2.0	11.0/12.0
Batthey	9.5/7.0	8.5/4.0	5.0/6.0	15.0/9.0	10.0/5.0	9.5/6.0	11.0/16.0
M. fortuitum	9.5/4.0	10.5/3.0	10.0/3.0	11.0/4.0	14.5/4.0	12.5/4.0	22.0/21.0
Rapid-grower (Group-IV)	11.0/5.0	6.3/3.0	6.7/4.0	9.5/6.0	7.5/5.0	11.5/8.0	16.0/21.0
M. bovis (D-4)	8.5/5.0	5.0/3.0	5.5/4.0	8.0/5.0	6.5/3.0	10.0/4.0	31.0/21.0
M. tuberculosis (H ₃₇ R _v)	4.0/5.5	5.0/5.0	3.0/3.0	3.0/6.0	3.0/4.0	6.0/3.0	11.0/22.0

Remarks; 4 weeks/8 weeks

全供試 A. F. B.에 對해 Hypersensitive 한 것을 알 수 있어 계속적인 追試가 要望되었다.

(c) 各種試劑 Tuberculin의 皮內接種에 依한 反應 比較

8種의 A. F. B. 感作 Guinea pig에 6種의 試劑 Tuberculin과 1種의 H. C. S. M. Tuberculin을 接種 皮內反應을 比較한 바로는 Table 9에서 보는 바와 같이 Homologous Response가 Heterologous Response에 비해 대체로 높았으며, 그가운데 4週에 비하여 8週의 경우 H. C. S. M. Tuberculin의 경우만을 除外하고 弱反應임을 一見感知할 수 있었다. 다만 H. C. S. M. Tuberculin의 경우는 反對로 8週에 있어서 全 A. F. B.에 response가 높았으며 Myc. terrae(#17)만을 除外하고 陽性判定 Level에 해당하였다.

끝으로 本實驗中 皮內反應은 Tuberculin 接種後 24時間때가 48時間때보다 강한 Response가 있었다.

IV. 考 察

牛型結核은 家畜에서 뿐만 아니라 主要 Zoonoses의 하나로서 우리나라에서도 法定傳染病으로 되어 있어 Tuberculin 陽性判定이 되는 경우 지체없이 法에 따라 屠畜하게 되는 바 이로 因한 經濟的損失은 至大하다³⁾.

그러나 이와같이 重要한 疾病의 診斷이 사람에서의 경우와는 달리 單純한 H. C. S. M. Tuberculin만을 사용하고 있어, 우리나라의 경우 鄭等⁹⁾의 報告에 依하던 所謂 無病巢結核牛(No-visible-lesion reactor)가 1966~1969年度 사이에 Tuberculin 陽性判定乳牛에서 39.7~43.7%나 속출하고 있으며, 本著者들의 1971年度 調査⁴⁾

에서는 14類의 Tuberculin 陽性乳牛中 Myc. bovis는 1例도 없었고 다만 Atypical Mycobacteria가 9頭(64.3%)에서만이 檢出된 바 있어, 이와같은 No-visible lesion reactor의 原因을 糾明하고자 하며 Tuberculin 陽性乳牛發生 酪農場의 土壤을 對象으로 A. F. B. 分離를 調査하였던 바 Table 3에서 보았던 바와 같이 總 33件의 供試材料中 26件(66.7%)에서 A. F. B.가 分離可能 하였다. 이成績은 金等¹⁰⁾의 報告 80.3%보다 약간 떨어지나 安等²⁴⁾의 25.4%에 비하면 亦示 상당한 檢出率이었다.

分離된 場所別로 分析하여 보면 檢出分離菌株 總 26株中 10株(38.5%)가 放牧場에서, 다음이 牛舍로서 9株(34.6%), 그리고 運動場에서 7株(26.9%)가 分離되어 土壤 Sampling 場所에 따라 差異가 있었고, 分離된 26株의 A. F. B.는 全部 Atypical Mycobacteria로서 Runyon's Schema에 따라 分類한바로는 Table 4에서 보았던바와 같이 Group-I (Photochromogen)은 全無하고 Group-II (Schotochromogen)이 10例(38.5%), Group-III (Nonchromogen)은 7例로 26.9%, 그리고 Group-IV (Rapid grower)가 9例로서 34.6%이었다.

또한 分離된 26株의 菌株을 種別로 본바로는 Table 5에서와 같이 Runyon Group-II에 屬하는 M. scrofulaceum이 6例로서 23.1%, Myc. gordonae 4例(15.4%), 다음 Group-III에 屬하는 것으로 M. terrae complex가 3例(11.5%)와 Myc. gastri가 1例(3.9%)이었고, Group-IV에 屬하는 種으로는 Myc. fortuitum 9例(34.6%)로서 亦是 Runyon Group-IV가 가장 많았으며, 其外에 Unidentified case도 3例(11.5%)가 있었는데 이와같은 成績을 金等¹⁰⁾, 安等²⁴⁾의 報告와 대

등소이 한 것을 알 수 있었다. 그리하여 이번에는 Tuberculin 양성乳牛에서檢出된 A.F.B.와酪農場, 정원흙 및 밭흙 등에서分離된 A.F.B.의檢出率(%)을比較考察하였던바 Table 6와 Fig. 3에서 본 바와 같이 Tuberculin 양성乳牛에서分離된 A.F.B.가 이가운데 포함되어 있어土壤에서의 Cross-Infection을考慮할 수 있으며, 특히 이와같은事實은 Kubica 등¹³⁾과 Jeffries 등¹⁴⁾에依해서證明되고 있는바,人體에分布하고 있는未分類抗酸菌의細菌學的性狀은土壤이나自然水和 같은自然率에 널리分布하고 있는抗酸菌(A.F.B.)의性狀과類似한點이 많다는 것이다.

家畜은 사람의 경우와 달리自然環境에曝露가 많은動物로서土壤에서 A.F.B.의 Cross-Infection은自然스러운樣相으로서考慮될때結核乳牛를 찾는方法이 좀더研究開發되어야 할것으로著者들은生覺, 現在 사용되고 있는 H.C.S.M. Tuberculin과 1971年度 Tuberculin 양성乳牛에서分離된 A.F.B.를試材菌株로하여 Chaparas²⁵⁾ 등의方法에 따라 Tuberculin을 만들어供試菌株로感作된 Guinea pig의 4週와 8週에 Tuberculin을皮內接種 24時間後에 Response(Redness size in mm)를測定 Homologous response를基準(100)으로 하였을때各 Heterologous Challenge를 본바로는 Table 7과 8에서와 같이 4週의 경우感作菌株에 따라 Homologous, 또는 Heterologous Response가 다를 수 있었으나, 8週의 경우는 4週에서의 경우에서와는 달리 몇개의例를除外하고 Homologous Response가 높았다.

이와같은事實은成績間的差異는 있으나 Chaparas²⁷⁾의結果와 비슷하였고, 同種의菌株라 하여도環境條件및地理的인與件이 다른곳의 사람에서의 Tuberculin Sensitivity는 달랐다는學說^{26), 27)}과 같은데서 오는結果로生覺된다.

다만供試株中 H.C.S.M. Tuberculin의 Challenge는全 A.F.B.에對해 Hypersensitive한것을알수있어 보다向上된 Tuberculin開發이要望된다.

8種의 A.F.B.感作 Guinea pig에 6種의試劑 Tuberculin과 1種의 H.C.S.M. Tuberculin을接種皮內反應을比較한바로는 Table 9에서 본바와 같이 Homologous가 Heterologous 보다 Response가 높았으며 그가운데에서도 4週에比하여 8週의 경우 H.C.S.M. Tuberculin의 경우만을除外하고弱反應임을一見感知할 수 있는데, 金²⁸⁾은 그의報告에서,實驗動物에 있어서 O.T.에對한反應은各 Strain의接種群에 따라陽性率과反應度의差異가 있으며, Atypical Acid-Fast

Bacilli의感染은一時的으로短期間內弱反應의要因으로 본다는事實과一致하는것으로思料된다.著者等이 만든 Tuberculin의力價의標準化를 위해對照 Tuberculin으로使用한 미국 NIH T.와 Table 6에서 보는 바와 같이同一한反應度를 나타내는 것은本實驗에使用한 Tuberculin의正確性を立證해주는 것이다.

끝으로本實驗中皮內反應은 Tuberculin接種後 24時間때가 48時間때 보다 강한 Response가 있었는데 이는 金²⁹⁾의報告에서의報告와一致하고 있어,乳牛에서의 경우 Tuberculin接種 48~72時間內皮內反應測定은再參追究되어야 할것으로生覺된다.

V. 結 論

Tuberculin 양성乳牛의感染源과分離菌株의 Tuberculin反應을알기爲하여,國內酪農場土壤에서 A.F.B.調査와 Tuberculin 양성乳牛에서檢出된 A.F.B.感作 Guinea pig에對한各種試劑 Tuberculin의 Cross-Reaction을觀察한바 그結果는 다음과 같다.

(1)酪農場土壤에서分離된 26株의菌株를 Runyon's Schema에 따라分類하였던바 Group-I Photochromogens은 전혀없고, Group-II Schotochromogens은 10株 38.5%이며, Group-III nonchromogens은 7株로 26.9%이고, Group-IV Rapid growers는 9株 34.6%이었다.

(2) Runyon Group-II에屬하는菌株를菌種別로 보면 M. scrofulaceum 6株(23.1%), M. gordonae 6株(15.4%)이며, Group-III에屬하는菌株로는 M. terrae complex 3株(11.5%), M. gastri 1株(3.9%) Group-IV로는 M. fortuitum가 9株(34.6%) 그리고 Unidentified A.F.B.가 3株(11.5%)가 있었으며, Tuberculin 양성乳牛에서分離한 A.F.B.分布와一致하고 있었다.

(3) Tuberculin 양성乳牛에서分離된菌株를 Guinea Pig에感作시킨후 4週와 8週에試病 Tuberculin와 H.C.S.M. Tuberculin를接種 Cross-Reaction을檢討하여 본바現在結核乳牛檢索에使用되고 있는 H.C.S.M. Tuberculin은 Homologous(牛型菌感染)는勿論 Heterologous(非定型抗酸菌에 의한感染)에도 그反應度가 높아서事實上牛型菌感染인지 또는非定型菌으로因한 Cross-Reaction인지는이의追試가 보다要望된다.

<본 연구는 결핵학회 연구비로 시행되었음>

References

- 1) Moore, Veranus Alva; Tuberculin and Its use, Bovine Tuberculosis and Its Control, Carpenter Co, Ithaca, N. Y. 1913.
- 2) 李元暢・朴容在: 人獸共通傳染病으로서 우리나라結核에 關한 考察, 友石醫技大雜誌 Vol. 1, No. 1, 1970.
- 3) 李元暢・李康郁: 牛型結核에 關한 疫學的 調查 및 細菌學的 調查(第 I 報)—Tuberculin陽性乳牛에 對한 疫學的 調查 결핵 및 호흡기질환 Vol. 19, No. 3, 1972.
- 4) 李康郁・李元暢外: (第 II 報)—Tuberculin 陽性乳牛 (1971年度)에서 檢出된 Mycobacteria species에 關한 研究 결핵 및 호흡기질환 Vol. 19, No. 3, 1972.
- 5) Hasting, E. G. et al: The sensitization of cattle to tuberculin by other then tubercule bacilli, *Am. Rev. Tuberc.* 22:218, 1930.
- 6) Bruner, S. E.: Eradicating tuberculosis in Pennsylvania, *J. Amer. Vet. Med. Asso.* 58:147, 1920.
- 7) Hagan, W. A.: The no-lesion case problem in the tuberculosis eradication campaign, *Cornell Vet.*, 21:163, 1931
- 8) 金丁圭 外: Studies on the production of purified protein Derivated Tuberculin test, The Research Report of Office of Rural Deve. Vol. 13(Veterinary) 1970.
- 9) 鄭雲翼 外: 無病巢結核牛의 病理學的 研究, 농촌진흥청, 가축위생연구소 시험보고, 1968-1969.
- 10) 金成鎭・金尙材: 韓國土壤으로 부터 分離된 未分類 抗酸菌에 關한 研究, 결핵 및 호흡기질환 18:(2), 1971.
- 11) Frey, C. A.: A method for detecting acid-fast bacteria in the soil, *Science*, 71:366, 1930.
- 12) Gordon, R. E. and Hagan, W. A.: The isolation of acid-fast bacteria from soil, *Amer. Rev. Tuberc.*, 36:549, 1937.
- 13) Kubica, G. P., Beam, R. E., and Palmer, J. W.: A method for the isolation of unclassified acid-fast bacilli from soil and water, *Amer. Rev. Resp. Pis.*, 88:718, 1963.
- 14) Jeffries, Met al: Unclassified mycobacteria cultured from soil. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 88: 129(Abstract), 1963.
- 15) Runyon, E. H.: Anonymous mycobacteria in pulmonary diseases, *Med. Clin. N. Amer.* 43: 273, 1959.
- 16) Vestal A. L.: Procedures for the isolation and identification of mycobacteria. Laboratory Consultation and Development Section, Laboratory Division. Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, U. S. A. 1969.
- 17) Kubica, G. P. and Pool, G. L.: Studies on the catalase activity for acid-fast bacilli. I. An attempt to sub-group these organisms on the basis of their catalase activities at different temperatures and pH. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 81:387, 1970.
- 18) Kubica, G. P.: A combined niacin-nitrate reduction test for use in the identification of mycobacteria, *Acta. Tuber. Scand.*, 45:161, 1964.
- 19) Kestle, D. J. et al: Differential identification of mycobacteria: I, Subgroups of Group I and II (Runyon) with different clinical significance, *Amer. Rev. Resp. Dis.* 95:1041, 1967.
- 20) Kilburn, J. O., Silcox, V. A., Kubica, G. P.: Differential identification of mycobacteria V. the tellurite reduction test. *Am. Rev. Resp. Dis.* 99:94, 1969.
- 21) Wayne, L. G.: Recognition of Mycobacterium fortuitum by means of a three-day phenolphthalein sulfatase test, *Amer. J. Clin. Path.*, 36:185, 1961.
- 22) Bönicke, R.: Die Differensierung humaner und boviner Tuberkelbakterien mit Hieilfe von Thio-phen-2-carbonsäurehydrazid. *Naturwissenschaften* 45:39, 1958.
- 23) Wayne, L. G.: Classification and identification of mycobacteria III. Species within Group III. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 93:919, 1966.
- 24) 안재원・이성관: 한국토양에서 분리한 비정형항산균의 Subgroup에 관한 연구. 결핵 및 호흡기질환 33:29, 1968.
- 25) Chaparas, Sotiros D. et al: Specificity of Tuberculins and Antigens from Various Species of Mycobacteria. *Amer. Rev. Resp. Dis. Vol.* 101, 1970.
- 26) Edwards, L. B. et al: Sensitivity profiles of

- mycobacterial infection, Proceedings of the XVI International Tuberculosis Conference, *Bull. Int. Un. Tuber*, 32:384, 1962.
- 27) Smith, D. T. : Diagnostic and prognostic significance of the quantitative tuberculin tests, *Ann. Inter. Med.*, 5, 919, 1967.
- 28) 金斗熙 : 各種 抗酸菌 接種家兎에 對한 OT 及 Atypical Acid-Fast Bacilli 의 Antigen 과의 Cross-reaction 결핵 및 호흡기질환 14:11-19. 1962.
- 29) 金丁圭 : Tuberculin 에 關한 研究, 大韓微生物學會誌 4:(1), 1969.
-