

## 돼지 Toxoplasmosis의 간접 적혈구응집 반응과 피내반응에 관한 연구

서 명 득 장 두 환  
가축위생연구소 서울대학교 농과대학

### 서 론

Toxoplasma 병에 대한 항체를 혈청학적으로 증명하는 방법에는 여러가지가 있다. 그러나 현재까지 Sabin과 Feldman<sup>(13)</sup>의 색소시험법(dye test)이 한 비혈청반응으로 널리 이용되고 있다. 그러나 이 방법은 항상 준비된 생 충체와 accessory factor가 필요 하기 때문에 실시하기가 쉽지 않다<sup>(21)</sup>

보체결합반응<sup>(1)(23)</sup>에 관한 여러 보고 예가 있다. 돼지 항혈청에 대한 보체결합 저지반응(Complement fixation inhibition test)이 보고 된바 있으나 응용하기에는 복잡하다.<sup>(10)</sup>

Frenkel<sup>(2)</sup>은 Toxoplasma 원충으로 제조한 항원(Toxoplasmin)은 환자로 하여금 피부반응을 일으킬 수 있다 하였고, Nobuto 등<sup>(11)</sup>은 T.S.C. (Toxoplasma-antigen for swine concentrated) 항원으로 돼지의 피내반응을 수행 하였는데 이 항원은 현재 일본에서 돼지의 Toxoplasma 병에 대한 피내반응에 사용되고 있다.

Lunde와 Jacobs<sup>(7)</sup>는 Toxoplasma 충체를 액체항원이나 또는 acetone-ether 처리에 의한 분말정제 항원을 만들어 간접 적혈구응집반응을 하였다. 常松<sup>(24)</sup>은 간접 적혈구응집반응은 높은 특이성과 민감도가 있어서 Toxoplasma 병의 조기진단에 사용할 수 있다고 하였다. 한편 北原 등<sup>(22)</sup>은 Nobuto 등<sup>(11)</sup>이 만든 T.S.C. 항원이 간접 적혈구응집반응항원으로 이용 될 수 있음을 보고 하였다.

최근에 Mayer and Boehringer<sup>(8)</sup> 및 Singh 등<sup>(14)</sup>은 소에서, 北原 등<sup>(22)</sup>과 Zaman 등<sup>(18)</sup>, 그리고 Singh 등<sup>(14)</sup>은 돼지에서, Uchinuno 등<sup>(18)</sup>은 개의 Toxoplasma 병의 항체 조사에서 간접 적혈구응집 반응을 이용하여 높은 양성율을 보고한바 있으며, Koshimizu 등<sup>(6)</sup>과 Schnur-berger 등<sup>(17)</sup> 및 Dorosz 등<sup>(1)</sup>은 Intradermal toxoplasmin test로써 사람, 돼지, 그리고 개 등에서 항체 조사를 하였다.

우리나라에서는 文<sup>(9)</sup>이 보체결합 저지반응으로 돼지의 항체 보유율을 조사한 바 13.4%에 달한다고 보고하였다. 특히 전남, 전북지방은 본 병의 상재지로 알려져 있고 이로 인한 돼지의 피해가 큰 것으로 추측되고 있다.

이와 같이 여러 연구자들이 Toxoplasma 병의 신속 정확한 진단방법을 고안 하고자 많은 연구를 진행하고 있다. 따라서 저자는 여러가지 진단법 중 비교적 간편하고 신빙성이 높다고 믿어지는 간접 적혈구응집 반응과 피내반응법을 돼지의 Toxoplasma 병 진단에 이용할 목적으로 양 반응에 사용되는 항원을 만들고 이것을 인공감염된 돼지에 사용하여서 실험하였다.

### 재료 및 방법

공시원충: 가축위생연구소에서 보존계대하고 있는 *Toxoplasma gondii*(RH주)를 사용하였다.

희석액: 식염수는 0.85% 및 1.7%의 농도를 사용하였고 인산완충식염수(PBS)는 pH 6.4와 pH 7.2인 M/15의 것을 사용하였다. 그리고 pH 7.2인 M/15 PBS에 1%가 되도록 가토혈청을 넣어서 사용하였다. 이 가토혈청은 적혈구응집 역가가 4 배 이하의 정상 혈청을 56°C에 30분간 비등화 한 후 첨가 하였다.

탄닌산 처리 면양적혈구: 면양 혈액을 동량의 Alsever액과 더불어 채혈 혼합하고 4°C에 보존하면서 사용되 1 주 지난 것은 사용치 않았다. 적혈구 세척은 pH 7.2인 M/15 PBS로 1,500 r.p.m.에 10분간 3회 원심 세척하고 마지막 세척은 2,000 r.p.m. 5분간 원심하여 침사에 40배량의 pH 7.2 M/15 PBS를 가하고 부유시켜 2.5% 적혈구액으로 하여 사용하였다. 탄닌산 용액은 Mallinckrodt 제의 것 100mg을 20ml.의 멸균 생리식염수에 용해시켜 5°C에 보존한 것 20,000배액을 사용하였다. 적혈구의 탄닌산 처리는 2.5%의 면양 혈구액 3ml.와 동량의 20,000 배 탄닌산 용액을 침전관에 분주하고 신속히 혼합한 다음 실온에서 5분마다 진탕하면

서 15분간 방치한 후 pH 7.2인 M/15 PBS 10ml.를 가하여 2,000 r.p.m. 5분간 원심 세척하고 침사에 생리 식염수 3ml을 가하여 부유시켜 감작 적혈구액으로 하였다.

**간접적혈구반응항원** : *Toxoplasma* 원충을 체중 15~20g의 마우스에 감염시켜 만 3일째 마우스가 폐사하기 전에 ethyl ether로 경마취시켜 복부를 충분히 소독하고 5ml.의 주사기를 사용하여 2ml.의 멸균 생리식염수로 감염마우스 복강액을 세척·집중 하였다. 이것을 네 겹의 가제를 놓은 150목의 금망으로 여과하여 멸균 생리식염수로 2,000 r.p.m. 30분간 3회 반복 원심 세척하고 침사에 20배 량의 멸균 재증류수를 가하여 부유시켰다. 이것을 5°C에 하룻밤 방치하고 나서 거기에 1.7% 식염수를 동량 가한 다음 3,000 r.p.m. 10분간 원심하고 상청액을 얻었다. 다시 이것을 5°C에 하룻밤 정지한 다음 10,000 r.p.m. 1시간 냉각원심(3-5°C)한 후 상청액을 작은 시험관에 분주, -20°C 냉동기에 보존하고서 항원으로 사용하였다. 사용시에는 보존 항원을 0.85% 생리식염수로 10, 20, 50, 100 배로 희석한 다음 양성 혈청으로 열가를 측정하여 소정의 항체가를 나타내는 항원농도를 결정 하였다. 본시험에서는 흔히 10배 희석항원을 사용하였다.

**항원감작적혈구액** : 적혈구에 항원을 입힐때는 동결 보존한 항원을 녹여 pH 6.4인 M/15 PBS에 사용농도로 희석한 다음 3ml.을 동량의 탄닌산감작 적혈구액에 가하고 잘 혼합하여 실온에서 5분마다 진탕하면서 15분간방치 (대조용 탄닌산처리 적혈구액은 항원대신 pH 6.4 M/15 PBS를 동량 가함)한 후 pH 7.2인 가토혈청가 PBS로 2회 원심 세척하고 침사에 다시 가토혈청가 PBS 3ml.를 가하여 항원감작 적혈구액으로 하였다.

**간접적혈구반응용공시혈청** : 공시혈청은 56°C 30분간 비등화하여 공시 하였는데 항체출현 조사에서는 혈청을 pH 7.2인 가토혈청가 PBS로 2배 단계희석하고

항원역가 보존시험에서는 4배 단계희석 하였다. 반응술식은 常松<sup>(24)</sup>법에 준하였으며 판정은 常松<sup>(24)</sup> 및 Stavitsky<sup>(16)</sup>법에 준하였다.

**피내반응항원** : Lunde와 Jacobs<sup>(7)</sup> 및 Nobuto<sup>(11)</sup>의 항원 제법을 기초로 하여 다음과 같이 제조하였다. 즉 간접 적혈구응집 반응용 항원제조에서와 같이 집중한 총체를 생리식염수로 3회 원심 세척한 후 침사에 10배 량의 멸균 재증류수를 가하여 -20°C에서 6~8회 동결, 용해하여 총체를 충분히 파괴한 후 1.7%식염수를 동량 가하여 4°C에서 하룻밤 정지한 다음 3,000 r.p.m. 40분간 원침하여 상청액을 얻었다. 이 상청액 1ml.당 냉각 acetone 25ml.씩을 넣고 20분 후에 생리 백색 침전물을 3-5°C에서 2,000 r.p.m. 20분 원침후 acetone을 제거하였다. 이 조작을 반복한 후 Ethyl ether로 1회 원침 세척하고 백색 분말을 메시케터에서 진공건조시켜서 acetone 처리전의 양이 되도록 멸균 생리식염수로 희석하고 역가검정에 사용하였다. 그리고 항원의 역가검정은 Nobuto<sup>(11)</sup> 방법에 준하였다.

**돼지의 인공감염** : 적혈구 응집역가 10배 이하의 생후 2개월령의 건강 자른 5두를 공시하였다. 그중 4두는 *Toxoplasma* 원충수가 생리식염수 0.5ml. 중에 3,000~4,000 개가 함유되도록 혈구계산판으로 조정하여 희석하고 3회에 걸쳐 접종(Fig. 1)하였다. 다른 1두는 대조로 하였다.

간접 적혈구 응집반응과 피내반응 검사는 1회 접종 후 1주간격으로 실시하고 2주째와 5주째에도 원충을 접종하였다.

## 결 과

**인공감염 돼지의 적혈구응집 항체의 소장** : 생후 2개월령의 자돈에 *Toxoplasma gondii*를 인공감염 시킨후 적혈구응집 항체 출현과 그 지속성을 조사 하였던바 표 1에서와 같이 대체로 1회 접종후 1주째 부터 항체가 출현했고 개체에 따라 약간의 차이가 있었다.

Table 1. Hemagglutinating Antibody Titer of Artificially Infected Pigs with *T. gondii*

Pig No.	Sex	Hemagglutinating titer									
		Weeks after infection									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	♂	<10	160	160	40	40	↓	160	1280	1280	2560
2	♂	<10	160	160	80	40	—	80	1280	1280	2560
3	♀	<10	80	80	80	80	—	40	320	320	1280
4	♂	<10	40	40	40	20	—	20	1280	1280	2560
Control	♀	<10	<10	<10	<10	<10	—	<10	<10	<10	<10

↓ : *T. gondii* challenged

2 주째 2 회 접종하고 제 3 주째는 3 번 돼지를 제외한 다른 세 마리의 돼지에서 항체역가가 떨어졌다. 5 주째 3 회 접종한 후에는 1 번과 2 번 돼지에서는 다시 항체역가가 상승하기 시작하였으나 3 번과 4 번 돼지는 제 6 주 까지 항체역가가 상승치 않았다. 그러나 7 주째 부터는 다시 모두 역가가 상승하기 시작하여 그 후 계속되었다.

**보존 온도가 적혈구응집 항원의 항원성에 미치는 영향 :** *Toxoplasma* 총체를 파괴시켜 제조한 액체항원을 5ml.의 초자병에 분주하여 각각의 보존 온도별로 10병씩 보존하고 보존 개시후 1 주 간격으로 1 복색을 발취하여 보존 역가시험에 공한 성적은 표 2 와 같다. 즉  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 보존한 것은 5 주째 까지도 역가의 변동은 없었으나,  $5^{\circ}\text{C}$ 에서는 3 주째 부터 하강하고 실온에서는 역가의 급격한 하강을 나타내어 1 주째에 64 배, 2 주째는 음성이었다.

**동결건조가 피내반응 항원의 항원성에 미치는 영향 :** Acetone-ether 로 정제한 Lot 3 과 Lot 4 의 피내반응 항원 검사는 접종 8 주후에 2560 의 혈청역가를 가진 감염자豚 2 두와 건강자豚 1 두를 공시하여 다음과 같이 하였다. 즉 우측 복부의 털을 깎은 다음 피내반응 항원을 1 : 1, 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20으로 생리식염수에 희석하여 이것의 0.2ml. 씩을 황으로 나란히, 건조전의 것은 상단

**Table 2. Hemagglutinating Antigen Titer of *T. gondii* Tested with HA Antigen Stored for Various Periods at Different Temperature**

Storage for (week)	Storage at ( $^{\circ}\text{C}$ )	Hemagglutinating antigen titer
0	-20	1024
	5	1024
	25	1024
1	-20	1024
	5	1024
	25	64
2	-20	1024
	5	1024
	25	<64
3	-20	1024
	5	256
	25	—
4	-20	1024
	5	256
	25	—
5	-20	1024
	5	256
	25	—

**Table 3. Comparison of Antigenicity of Purified Skin Test Antigens of *T. gondii* before and after Freeze-drying**

Lot No. and lyophilization	Pig No.	Skin test response (mm in width $\times$ length)				
		At body side skin (diluted)				At ear skin (diluted)
		1 : 1	1 : 5	1 : 10	1 : 20	1 : 5
Lot 3 before lyophilization	1	23 $\times$ 23.5 ##	22 $\times$ 23 ##	16 $\times$ 17 ++	16.5 $\times$ 18.5 ##	19 $\times$ 20 ##
	2	20 $\times$ 21 ##	19 $\times$ 20 ++	20 $\times$ 20 ++	15 $\times$ 15.5 ++	17.5 $\times$ 19.9 ++
Lot 3 after lyophilization	1	23 $\times$ 24 ##	21 $\times$ 23 ##	19 $\times$ 20 ++	16 $\times$ 18 ++	21 $\times$ 24 ++
	2	22.5 $\times$ 25 ##	20 $\times$ 20 ##	17 $\times$ 17.5 ++	14 $\times$ 15 +	—
	Control	—	—	—	—	—
Lot 4 before lyophilization	1	20 $\times$ 20 ##	19 $\times$ 20 ++	14 $\times$ 15 +	14 $\times$ 14 +	18.5 $\times$ 20 ++
	2	19 $\times$ 20.5 ##	17 $\times$ 19 ++	15.5 $\times$ 16 ++	14 $\times$ 14 +	16 $\times$ 17.5 ++
Lot 4 after lyophilization	1	18 $\times$ 19 ++	17 $\times$ 18 ++	15 $\times$ 16 ++	—	20 $\times$ 21 ##
	2	21 $\times$ 22 ##	17 $\times$ 19 ++	14 $\times$ 17 ++	13 $\times$ 14.5 +	—
	Control	—	—	—	—	—

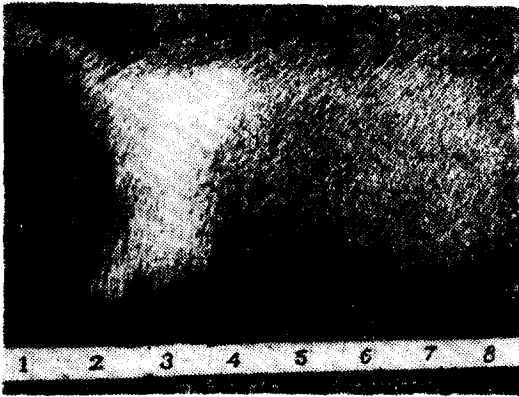
++ : Degree of swelling

에, 그리고 건조후의 것은 하단에 주사하고, 1:5의 0.2ml.은 우측 귀의 중앙부의 1개소에 피내주사 하였다. 이 양자의 비교성적은 표 3과 같다. 즉 건조 전후에 있어서의 항원의 역가에는 변동이 거의 없었다.

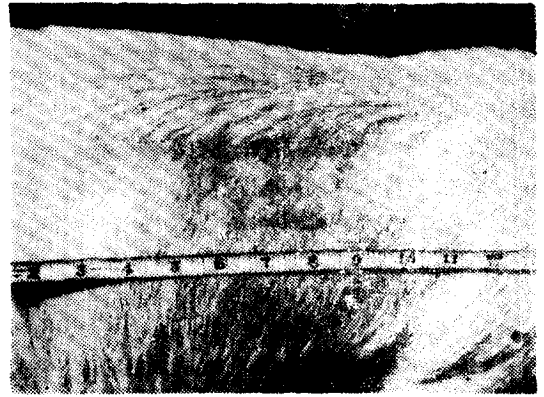
피내반응 항원의 역가시험과 역가조정피내반응용 항원의 역가 시험에서는 2번과 4번의 감염자돈 2두와 건강자돈 1두를 공시 하였다. 공시 항원으로는 동결건조 전에 acetone-ether로 처리할 때의 액체 항원량과 동량이 되도록 멸균 생리식염수를 가하여 원액으로 하였다. 그리고 이것을 1:1, 1:5, 1:10, 1:20으로 각각 희석하여 0.2ml.씩을 좌측 복부에 털을 깎고 소독

한 후 피내에 투벨쿠린 주사기로 주사 하였다. (Fig. 1 참조)

주사후 24시간째 그 부위에 나타난 발적 종창의 직경을 측정하고 직경 15mm 이상의 반응을 나타내는 항원 희석 배수를 1단위의 역가로 하고 공시 항원은 2단위가 함유 되도록 생리식염수로 희석하여 5ml.의 초자병에 1.2ml씩 분주하고 동결건조 진공 봉전하였다. 동결건조한 피내반응 항원은 다시 1.2ml.의 증류수를 가하여 재용해 하고 이의 0.2ml.를 감염자돈의 복측과 귀의 피내에 주사하여 동결건조 중에 있었을 역가의 변화 유무를 검사하였다.



a. Positive reaction



b. Negative reaction

Fig. 1. Cutaneous reaction in toxoplasmin skin test.

항원을 주사한 후 피내반응은 24시간 후가 가장 한계가 명확하고 측정하기가 용이하였다. 48시간과 72시간 째는 반응면적이 확산되어 측정하기가 용이치 않았다. 그리고 반응은 대체로 72시간 후 까지 지속하였으며 주사 부위의 피부장애는 대두(大豆) 크기의 흑적색의 괴사가 형성되었으며 4~5일 째에 가피가 형성되어 약 10일 전후에 탈락하고 희미한 흔적이 남아 있었다.

**동결건조 피내반응 항원에 대한 보존 온도의 영향:** 공시항원을 5°C, 실온 37°C에 각각 보존하고 일정기간 마다 1병씩 발취하여 감염 돼지에 대한 역가변동을 조사한 바 그 성적은 표 4와 같이 항원성이 대단히 안정함을 알 수 있었다.

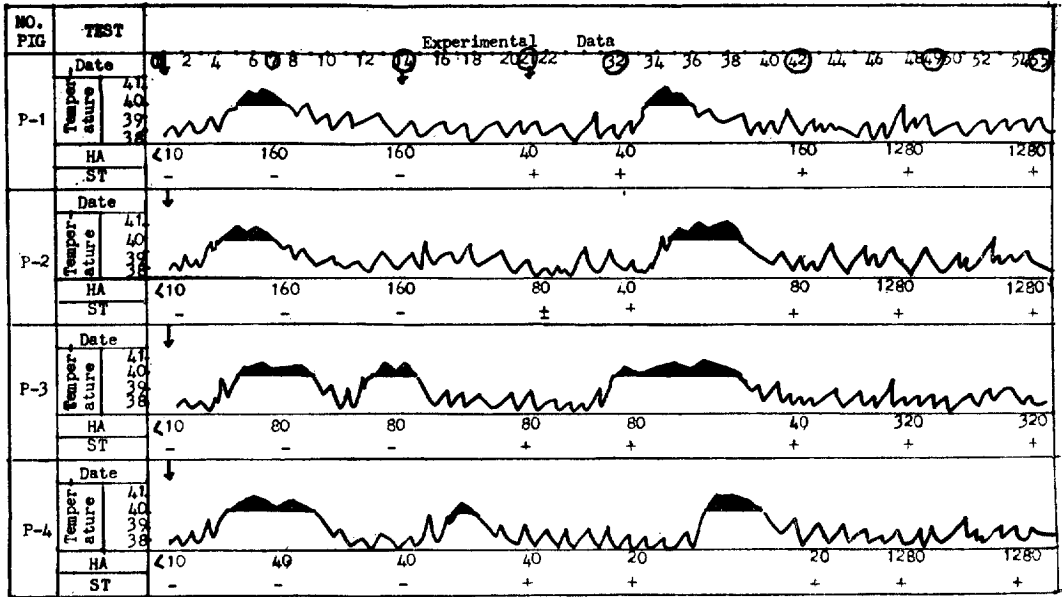
**현탁된 피내반응 항원에 대한 감작온도의 영향:** 동결건조된 피내반응 항원을 멸균 증류수로 희석하여 25°C 60분, 37°C 50분, 56°C 60분간 감작한 후 감염 돼지에 대한 역가변동을 조사한 바 그 성적은 표 5에서와 같이 항원성이 대단히 불안정 함을 알 수 있었다.

Table 4. Effects of Storage Temperatures on the Stability of Freeze-drying Skin Test Antigen of *T. gondii*

Period of Storage	Skin test response (mm in width × length)		
	Room temperature	37°C	5°C
1 month	20 × 21 ‡	19 × 20 ‡	20 × 21 ‡
2 months	19 × 21 ‡	19 × 22 ‡	19 × 22 ‡

‡ : Degree of swelling

**적혈구응집 항체와 피내반응 항체의 출현 비교:** *Toxoplasma*에 인공감염된 돼지는 4~6일의 잠복기를 거친후 발병 하였는데 고열은 대체로 2~6일간 지속되었고 식욕부진 흑갈색의 눈꼽, 콧물과 그리고 거침등의 임상증상을 나타냈으나 폐사된 예는 없었다. 이와 같이 내과한 인공감염 돼지 4두와 건강돼지(자돈) 1두에 대하여 1주 간격으로 채혈과 동시에 피내검사를 하였다. (그림 2 참조)



↓ : *T. gondii* challenged (Each animal was infected 3 times)  
 IP injection with saline suspension of counted organisms (RH) in the number of  $3 \times 10^7$   
 ST : Skin test

Fig. 2. Clinical sign and appearance of hemagglutinating and skin test antibody in artificially Infected pigs with *T. gondii*.

Table 5. Effects of Temperature and Periods of Storage on the Stability of Reconstituted Skin Test Antigen of *T. gondii*

Dilution of antigen	Skin test response (mm in width×length)			
	Temperature and time of storage			
	5°C(control)	25°C-60'	37°C-50'	56°C-60'
1 : 1	19×21 ‡	18×22 ‡	18×19.5 ‡	14.5×16.5 +
1 : 10	17×14 ‡	13×14.5 +	11×13 +	11×10 +

‡ : Degree of swelling

이 성적에 의하면 적혈구응집 항체는 감염후 1주째 부터 양성으로 나타났으나 피내반응 항체는 3주째에 양성 되었다. 이것으로 보아 피내반응 항체는 적혈구 응집 항체 보다 약간 늦게 출현하는 것으로 보이며, 이 두가지 항체는 출현후 장기간 또는 일생동안 존재 하는 것으로 추측된다. 그리고 적혈구응집 항체가 <10의 대조 돼지에 피내반응 항원 0.2ml.를 1주간의 간격으로 복측 피내에 3회 이상 주사하고 적혈구응집 및 피내반응 항체를 조사하였으나 모두 음성이었다.

II 활

Toxoplasma 에 대한 돼지에서의 적혈구응집 항체는 감염 1주 후에 출현한 것으로 보아 대체로 10일 전후 라고 보고한 小林<sup>(23)</sup>와 1주일 제라는 河島<sup>(21)</sup>의 성적 과 일치되는 것으로 믿어진다. 그러나 자돈에 있어서 의 항체 출현은 2주일 제라는 河島<sup>(21)</sup>의 성적과는 차이가 있는데 이 사실은 Lunde<sup>(6)</sup>의 보고처럼 원충의 병원성과 돼지의 저항성에 의한다고 볼때 오히려 자돈 에서는 성돈에서 보다 빨리 항체가 출현할 수 있었던

것이 아닌가 보인다. 그리고 2회 접종후 항체가 하강한 것은 1회 접종에 의한 항체와의 중화반응에 의한 것으로 믿어진다. 항원의 보존성에 있어서 동결된 것은 상당시간 보존이 가능하였으나 액체 상태로서는 이의 보존성이 극히 불안정 했는데 이 원인은 Lunde<sup>(7)</sup>가 지적한 대로 항원 자체의 파괴나 접합체의 파괴에 기인하는 것으로 믿어진다.

탄닌산 처리된 적혈구에 항원을 결합시킨 *Toxoplasma* 의 항원이 높은 역가를 보여주었음은 Stavitsky<sup>(15,16)</sup>와 George 등<sup>(8)</sup>이 지적한 대로 이 항원이 BDB-protein cells 항원 보다 훨씬 안정하고 예민하며 수행이 용이하고 자가용혈이 적다는 사실을 뒷받침하여 주었다. 한편 탄닌산처리 항원의 보존성에 있어서 5°C에서 1주간 보존에서 약간의 용혈이 있었으나 이것을 원심하여 상청액을 버리고 재부유시켜 얻은 항원의 역가에는 큰 변동은 없었으나 응집상이 나뉘었다. 이 사실은 Lunde<sup>(7)</sup>가 지적한 4°C에서 15일간의 보존이 가능하다는 것과 차이가 있다. 따라서 탄닌산처리 항원은 가능한한 빨리 사용하는 것이 좋다고 본다. 한편 *Toxoplasma* 의 항원은 탄닌산 처리로 특이적인 반응을 일으키는 것으로 보아 Lunde<sup>(7)</sup>가 지적한 대로 담백질 항원임을 추측할 수 있다. 피내반응 항원에 있어서 마우스의 복강액을 재료로 하여 많은 양과 특이성이 높은 항원을 얻어 이 사실을 감염자돈의 피내반응에서 입증하였는데 이 실험결과는 Frenkel<sup>(2)</sup>이나 Nobuto 등<sup>(11)</sup>의 업적과 일치하였다.

항원의 acetone-ether 처리 과정이 항원으로 하여금 피내반응 역가에 차이를 초래하지 않았고 또한 반응실시 부위에 있어서의 반응치의 차이가 없게한 것으로 미루어 보아 항원성분은 acetone 이나 ether 같은 유기용매에 대해 안정함을 알 수 있었다. 이 실험 결과는 피내반응 부위가 복측이든 귀 피내이든 어느 부위를 택하여도 종음을 암시하여 주었다. 그러나 측정시간에 있어서는 시간의 경과에 따라 반응 부위가 불명확하게 확산되므로 항원 주사후 24시간 만에 계측함이 가장 좋다고 본다.

피내반응 항원은 동결건조된 상태로 실온과 37°C에서는 장기간 보존되어도 역가에 큰 변동이 없었으나 현탁액의 상태에서는 역가가 급격히 소실 되었는데 이점

은 다른 일반 진단액의 경우와 같아서 항원을 액상(液相)으로 만들어 이용할 때는 보호제에 관한 것이 고려되어야 함을 암시하여 준다.

피내반응 항원의 역가측정을 돼지에서 시행한 이유는 Nobuto<sup>(11)</sup>가 지적한대로 동물간의 차이에 따르는 항원 역가의 차이를 없애기 위함이고, 피내반응을 간접적혈구 응집반응과 비교한 이유의 하나는 항체의 종류에 따르는 항체형성의 시기가 다름으로 해서 *Toxoplasma* 병의 진단에 있어서는 두 반응의 적용 시기를 고려해야 하기 때문이다. 그리고 피내반응은 간편하게 이용될 수 있고 또 보편화 될 수 있는 가장 좋은 방법이 아닌가 생각된다.

이상의 성적으로 보아 *Toxoplasma* 병의 진단에 있어서 간접 적혈구응집 반응은 조기 진단에 응용될 수 있고 피내반응은 역학적 조사 등에 응용 될 수 있는 가치가 있다고 믿어지며 특히 적혈구응집 항원의 보존성과 사용 농도의 표준화 등에 관하여는 앞으로 연구 검토되어야 할 것으로 믿어진다.

## 결 론

돼지 *Toxoplasma* 병에 대한 항체 검출이나 진단방법으로 간접 적혈구응집 반응과 피내반응을 인공감염 돼지에서 적용하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 인공감염 돼지의 적혈구응집 항체는 초기 감염후 1주째 부터 출현하기 시작하였고, 피내반응 항체는 3주째 부터 출현 하였다. 재감염에 의한 반응도의 증강 현상은 볼 수 없었다.
2. 간접 적혈구응집 반응에 있어서 탄닌산 처리 감작적혈구는 5°C에 1주간 보존에서 약간의 용혈이 있었으나 항원 역가에는 변동이 없었다.
3. 적혈구응집 항원은 동결상태에서 장기간 보존된 데 반하여 액체상태에서는 쉽게 항원성을 상실하였다.
4. 동결건조된 피내반응 항원은 5~37°C에서 수개월간 보존되었다.
5. 간접적혈구응집 반응은 비교적 조기진단법으로, 피내반응은 역학적 조사에 적합한 방법이라 할 수 있으나 이 두 가지를 병행함으로써 진단의 정확성을 높일 수 있을 것으로 믿어진다.

## 참 고 문 헌

1. Dorosz, J., Tos-Luty, S. and Uminski, J.: Serological and allergic test for toxoplasmosis in Alsatian dogs. *Vet., Bull.*, 1968. 38:679.
2. Frenkel, J.K.: Dermal hypersensitivity to toxoplasma antigen (Toxoplasmin). *Soc. Exp. Bio. and Med.*, 1948. 68:634.
3. George, M. and Vaughan J.H.: Observations on the nature of the antigen in tanned red cell haemagglutination. *J. Imm.*, 1962. 88:191.
4. Gabrys, K.: Toxoplasmosis skin test and allergometry in dogs. *Vet. Bull.*, 1964. 34:520
5. Koshimizu, K.: Distribution of toxoplasma antibodies in slaughtered hogs and workers of a Tokyo abattoir. *Vet. Bull.*, 1964. 34:459.
6. Lunde, M.N. & Jacobs. L.: Toxoplasma hemagglutination and dye test antibodies in experimentally infected rats. *Vet. Bull.*, 1964. 34:268.
7. Lunde, M.N. and L. Jacobs.: Characteristics of the toxoplasma hemagglutination test antigen. *J. Immunol.*, 1959. 82:146.
8. Mayer, H.F. and de Boehringer, I.K.: New findings of toxoplasmosis in animals in Argentina. *Vet. Bull.*, 1968. 38(4):216.
9. Mun, J.B.: Serological survey of toxoplasmosis on swine by C.F.I.T. in Korea. *Bulletin of Veterinary Research Laboratory*. 1965. 11(1):19.
10. Nobuto, K., Buzuki, K. and S, Ishi: Successful application of complement fixation-inhibition test to animal toxoplasmosis. *Jour. Jap. Vet. Med. Ass.*, 1960. 13:538.
11. Nobuto, K., U. Sato and T. Hanaki.: Preparation of the concentrated skin-test antigen (T.S.C.) for swine toxoplasmosis. *Jap. Jour. Vet. Sci.*, 1962. 24:297.
12. Nobuto, K.: Toxoplasmosis in animal and laboratory diagnosis. *Vet. Bull.*, 1968. 38:374.
13. Sabin, A.B. and Feldman, H.A.: Dyes as microchemical indicates of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (Toxoplasma). *Science*, 1948. 108:660.
14. Singh, M., Zaman, V., Goh, T.K. and Chong, S.K.: A survey on the prevalence of toxoplasmic antibodies in animal sera. *Vet. Bull.*, 1968. 38:594.
15. Stavitsky, A.B. and Arguilla, E.R.: Procedure and applications of hemagglutination and hemagglutination-inhibition reactions with bisdiazotized benzidine and protein-conjugated red blood cells. *J. Immunol.*, 1955. 74:306.
16. Stavitsky, A.B. Procedure and general applications of hemagglutination and hemagglutination-inhibition reactins with tannic acid and protein treated red blood cells. *J. Immunol.*, 1954. 72:360.
17. Schnurrenberger, P.R., Tjalma, R.A., Wentworth, F.H., and Wentworth, B.B.: An association of human reaction to intradermal toxoplasmin with degree of animal contact and rural residence. *Vet. Bull.*, 1964. 34:459.
18. Uchinuno, Y., Takeyama, Y., Ichihara, T. and Kitahara, Y.: A serological survey of toxoplasmosis in dogs, using the HA test, and the isolation of the organism. *Vet. Bull.*, 1968. 38:448.
19. Zaman, V., Singh, M., Spence, J.B. and Chew, M.: Porcine toxoplasmosis in Singapore. *Vet. Bull.*, 1968. 39:102.
20. 花木琢磨, 佐藤卯三郎, 信藤謙藏: 家畜のトキンプラズマ症に関する研究 (VII. 豚診断用皮内反応抗原に関する補遺), *日獣學誌.*, 1961. 23:403.
21. 河島後一, 渡邊昭宣, 赤根茂生, 吉田茂行, 木下錢: トキンプラズマ病の HA 反応抗原としての硫酸分割抗原について. *日獣會誌.*, 1963. 16:390.
22. 北原友榮, 久保田建御, 小枝鐵雄, 長田清治, 荻原徹: 血球凝集反應に関する豚のトキンプラズマ病抗體調査について. *日獣會誌.*, 1963. 16:170.
23. 小林昭夫: トキンプラズマ病とその検査法. *食品衛生研究*. 1963. 14(6) 別冊.
24. 常松之典: Toxoplasma 症の診斷について. *モドンメディア別冊*. 1963. 9:445.

## Studies on Passive Hemagglutination Test and Skin Test for Toxoplasmosis in Swine

Myung Deuk Suh, D.V.M., M.S.

*Institute of Veterinary Research*

Du Hwan Jang, D.V.M., M.S., Ph.D.

*College of Agriculture, Seoul National University*

### Abstract

Hemagglutinating antigen of *Toxoplasma gondii* was prepared and purified by the method of a slight modification of Tsunematsu, and the preparation of the skin test antigen (toxoplasmin) was made by means of acetone-ether treatment described by Nobute et al.

With these antigens the passive hemagglutination and skin tests were performed for the diagnosis of swine toxoplasmosis by using artificially infected pigs.

The results obtained were summarized as follows:

1. The hemagglutinating antibody and the skin test antibody were demonstrated one and three weeks after infection, respectively. And these antibodies were maintained over nine weeks after infection.
2. The antigenicity of hemagglutinating antigen was stable when it was kept in frozen state, while was unstable in a liquid state.
3. Freeze-dried skin test antigen (toxoplasmin) was stable for two months or more if it was kept at 5°C and room temperature, but in the liquid or reconstituted state it was unstable.
4. Freeze-dried skin test antigen could be preserved without loss of antigenicity for more than two months.
5. Passive hemagglutination test could be applied effectively at the early phase of the disease process and skin test at later phase, mainly for epidemiological survey. However, by combination of these methods, the more accurate results could be obtained.