

외국의 가금위생계획소개(3)



<미 국 편>

박 근 식
 <안양가축 위생 연구소>

1. 혈액검사(血液檢査)

1. 표준시험관 응집반응

(a) 채혈법과 송부법은 다음과 같이 한다.

(1) 채혈재료는, 자격을 갖고 한편 인가된 자가 행하며 실험실에 준비된 용기에 넣되 용기는 모가 없는 견고한 시험관(3/8×3 inch가 좋음) 또는 작은 약병으로 충분히 세척하고 한편 진열 멸균기로 건조한 것을 사용한다.

마개를 사용 할때는 충분히 세척하고 건조한 것을 사용한다.

(2) 익하 정맥에 작은 바늘(침)로 작은 절구(切口)를 만든다.

혹은 생리적 식염액으로 충분히 세척한 작은 주사기로 실험관에 충분한 양의 혈액을 채취한다. 혈청 분리를 용이하게 하기위해 혈액이 응고 될때까지 경사로 해서 둔다. 혈액이 완전히 응고한 후 포장하여 실험실까지 속달 편으로 송부하거나, 지참 하지 않으면 안된다.

모든 표시는 명확하게 하고 한편 내구성인 것으로 실험관의 주둥이(입구) 부위에 적당한 연필 혹은 점착 라벨을 사용한다.

(3) 혈액 재료는 신선 하여야 하며 한편 응혈 하지 않은 상태로 도착하지 않으면 안된다.

응혈 재료는 검사가 불가능하다.

따라서 경사로 하여 응고한후 바로 시험관을 냉각 한다.

또 실험실에 수 시간내에 도착 하지 않을때는 특수한 용기에 얼음을 넣어 포장 하거나 수송중의 보존을 확실히 하기 위하여 다른 냉각 방법을 사용하는 것이 중요하다.

추운 계절 일때는 동결에 의한 응혈의 방지에

각별 유의하지 않으면 안된다. 실험실에 도착 후 바로 재료를 냉장실(5~10°C)에 보관하지 않으면 안된다.

(b) 항원은 명확한 항원 구조를 가진 Sal Pullorum의 표준주로 제재하여 높은 응집능을 나타내야 하며 음성 및 비특이 혈청에 반응해서는 아니된다.

보존주(保存株)는 적어도 월 1회 새로운 사면 배지에서 이식하여 37°C에서 24~36시간 배양 후 18~25°C 냉암소(평균 실온)에 보존 한다. 보존주의 항원 구조나 순수성은 항상 체크 해야 한다.

(c) 장기간으로 사용 할때는 다음 조성 배지가 적당하다.

- 증유수.....1,000cc
- DiFiCo 우육집4gm(0.4%)
- DiFiCo Bacto Peptone.....10gm(1.0%)
- DiFiCo Agar.....20gm(2.0%)
- 반 응.....PH 6.8~7.2

선택주의 보존 배양에서 작성된 48시간의 사면 한천 배지의 집중 재료를 1인치의 큰 시험관, Kolle Flask 혹은 Blake 병의 한천 표면 전체에 Erlenmeyer 후라스크의 한천 표면에도 말한다.

항원 제작 시험관 혹은 병을 37°C에 48시간 배양하여 고농도의 부유액을 만들기 위해 충분한 양의 석탄산 0.5%를 첨가한 식염액(0.85%)으로 배지 표면을 씻는다.

Buchner 로-도에 얽은 여과지를 펴고 부유액을 흡입하여 여과해서 세균 덩어리를 제거한다.

각 항원을 등량 혼합하여 밀폐된 병에 넣어 냉장고(5~10°C)에 보관 한다.

(d) 시험관 응집 반응용 항원을 만들기 위해

보존액으로서 지오유산—구리세린(TG) 용액을 사용한다. TG 용액은 전형 응집반응용 색소 항원의 제재 이전부터 사용되어 왔다.

그 상세한 것은 Macdonald, A. D.의 추백리 급속 전형 응집반응용 항원의 최근의 개발(전국가급 개량계획보고) 122~127(941)에 기재되어 있다.

이 용액은 특이성이 높은 시험관 응집반응용 항원을 만들고 또 일정량의 용액에서 많은항원을 생산한다.

TG 용액 조성은 다음과 같다.

- 우육수.....1, 000cc
- DiFiCo Bacto Peptone10gm(1.0%)
- 지오유산 용액5gm(0.5%)
- 염화암모니아.....5gm(0.5%)
- 구리세린USP(95).....20cc(2.0%)
- DiFiCo Agar30gm(3.0%)
- 반응.....PH. 6.8~7.2

선택주의 보존 배양에서 만들어진 24시간의 우육집 배지의 접종재료를 1인치의 큰시험관, Kolle 후라스크, Blake 병 혹은 Erenmeyer 후라스크의 한천 표면에 도달한다.

항원 작성 시험관 혹은 병은 37°C에 96시간 배양하여 고농도의 부유액을 만들기 위해 충분한 양의 석탄산 0.5%을 첨가한 식염액(0.85%)으로 씻는다.

Buchner 로도의 얇은 여과지를 펴고 부유액을 여과하고 그후 항원을 원심한다.

세균을 원심관 혹은 시험관에서 제거하여 0.5% 석탄산이 들은 식염액(0.85%)으로 재부유액을 만든다. 회석액중에 세균이 균일하게된 후 흡인할 필요없이 Buchner 로도 여지에 여과한다. 각 항원을 등량 혼합하여 밀폐된 병에 넣어 냉장고(5~10°C)에 보존한다.

(e) 검사에 사용하는 항원은 보존 항원을 0.25% 석탄산가(加) 생리 식염수로 희석하여 McFarland 비색계의 0.75~1.00의 혼탁도로 조정한다.

희석 항원의 PH 농도는 수산화나트륨으로 8.2~8.5로 한다.

새로 희석한 항원을 2cc, 4× $\frac{1}{2}$ 시험관이나 1cc를 그보다 적은 시험관에 넣어 그안에서 항원과 혈청을 혼합하여 감작한다. 항원의 분주는 긴 뷰렛트 혹은 이 목적을 위해 만들어진 특별

한 분주기로 분주한다.

(f) 사용하는 최대 혈청 희석배수는 닭에서는 1:50, 칠면조는 1:25가 가장 유효하다. 혈액 검사에 관한 공식보고에서는 혈청 희석배수를 기재하지 않으면 아니된다. 잘 세척된 혈청희석 피펫트, 혹은 다른 혈청이 혼합하지 않도록 특수한 혈청 분주기를 사용하여 응집 시험관에 혈청을 분주한다.

항원과 혈청은 감작전에 잘 혼합하지 않으면 아니된다. 항원과 혈청의 혼합액은 37°C에서 적어도 20시간 감작한다.

(8) 성적은 다음과 같이 기재한다.

N 또는 -(음성): 혈청과 항원의 혼합액이 균일하게 혼탁되었을 때

P 또는 구(양성): 명확하게 항원 덩어리가 존재하고 응집입자간의 액이 투명할 때,

S 또는 ?(의양성): 응집이 부분적 혹은 불완전 할때,

M 또는 불명: 기록 원본에 기재된 재료가 불명할때.

H 또는 응혈: 재료가 응혈하여 검사가 불가능 일때.

B 또는 파손: 재료를 넣은 시험관이 파손하여 혈청을 얻을 수 없을 때(항원 및 방법의 다르므로서 감수성이 차가 있을 것을 고려하여 언제나 각각의 성적에 대해서 정확한 판단을 하지 않으면 아니된다. 다시 한번 제균의 경력에 대해서도 고려하지 않으면 아니된다. 의반응을 나타내는 개체가 존재하는 계군에서는 Sal Pullorum의 존재 유무를 결정하기 위해 대표계에 대해 세균 검사를 하는것이 좋다.

2. 급속 응집반응

(a) 급속 응집반응의 혈액 재료의 채취와 송부 방법은 제2장 제1항(a)와 동일하게 한다.

(b) 항원은 다음과 같이 제조한다.

(1) 항원은 명확하게 항원 구조를 가진 Sal Pullorum의 대표주로 제조하며 높은 응집능을 갖지 않으면 아니되나 음성 혹은 비특이 혈청에 반응하면 아니된다.

(2) 장기간 사용할때는 다음의 조성 배지가 적합하다.

증 유 수.....1, 000cc
 DiFiCo 우육집4gm(0.4%)
 DiFiCo Bacto Peptone.....10gm(1.0%)
 DiFiCo Agar.....20gm(2.0%)
 반 응.....PH 6.8~7.2

(3) 선택주의 보존 배양에서 만들어진 48시간의 사면 한천배지의 접종재료를 1인치의 큰실험관 Kolle 후라스크 혹은 Blake 병의 한천표면 전체에 도말한다. 보존주는 적어도 월 1회 새로운 사면 배지에 이식하여 37°C에 24~36시간 배양후 18~25°C의 냉암소에 보존한다. 보존주의 항원구조 및 순수성을 항상 체크하지 않으면 아니된다.

(4) 항원 제작 시험관 및 병을 37°C에 48시간 배양하여 소량의 0.25~0.5%의 석탄산을 가한 12% 식염액으로 배지 표면을 씻어 멸균 로—to에 멸균 여지를 대고 여과한다.

(5) 여과액을 수정(0.25~0.5% 석탄산을 첨가한 12% 식염액을 사용)하여 McFarland 비타계의 0.75관의 50배 이상 혹은 Gates 비타계에 의한 7mm의 혼탁도로 한다.

(6) 각각의 항원은 명확한 표준 항원과 비교하여 음성 혈청에 감수성이 없고 양성 혈청에 높은 응집능을 나타내는가를 검사한다. 각각의 항원을 등량 혼합하여 밀봉된 병에 넣어 냉장고(5~10°C)에 보존한다.

(c) 적당한 초자판으로 검사를 한다.

항원 혈청 희석을 한다.

표준 시험관 법과 비교하여 1:50을 넘게 하지 않게 한다.

칠면조 검사시는 시험관 법의 1:25의 희석과 같이 혈청 항원의 희석을 하는 것이 좋다. 혈청을 항원에 넣어 혈청 피펫의 선단을 사용하여 충분히 각반한다. 강양성 반응은 15~20초 이내에 명백하게 나타낸다. 최종판정은 그 또는 3분에 한다. 약 37°C로 검사판을 보존하면 응집이 촉진된다. 판정전에 판을 수회 좌우로 움직인다.

(d) 성적은 다음과 같이 기록한다.

N 혹은 -(음성): 혈청 항원 혼합액이 균일하게 혼탁할 때

P 혹은 +(양성): 명확히 항원피가 존재하고 응집입자간의 액이 투명

S 혹은 ?(의양성): 응집이 부분적 혹은 불

완전 할 때.

M 혹은 불명: 기록원본에 기재된 재료가 불명할 때.

H 혹은 용혈: 재료가 용혈하거나 검사가 불가능할 때

B 혹은 파손: 재료를 넣은 시험관이 파손하여 혈청을 얻지 못할 때(항원이나 방법이 달라 감수성의 상이를 고려하여 언제나 각각의 성적에 대하여 정확한 판단을 하지 않으면 아니된다. 즉 재차 계군의 경력에 대해서도 고려하지 않으면 아니된다. 의반응을 나타내는 개체가 존재하는 계군에서는 Sal Pullorum의 존재 유무를 결정하기 위해 대표계에 대해서 세균검사를 하는 것이 좋다.)

3. 급속 전혈 응집반응용 색소항원

(a) 해당 항원은 특정 감독에 기준하여 농무성의 허가에 의해 제조됨으로 항원의 작성법에 대해서는 생략함.

(b) 혈액량은 정확히 측정하는 튜브는 항원 제조자로 부터 얻을 수가 있다. 정확한 튜브는 길이 2 $\frac{1}{2}$ 인치의 No.20 규격의 크롬선으로 만들어 그 말단에 직경 $\frac{3}{16}$ 인치의 크기의 동그라미를 만든다. 동그라미에 혈액을 넣으면 동글게 되어 그량은 0.02cc로 된다.

1방울이 0.05cc가 되는 스포이드를 항원 측정애 사용된다. 15인치 평방에 48개소의 검사구획이 있는 glass 판을 검사에 사용하면 좋다. 이러한 판을 사용하며 검사원은 관찰하면서 일을 중지하는 일이 없이 연속하여 다수 검사를 할 수 있다.

(c) 항원은 1방울을 검사판에 떨어뜨린다. 이하 정맥에서 튜브에 혈액을 받아 항원과 각반할 때는 직경 1인치로 하고 그후 튜브를 맑은물로 닦는다.

필요시는 흡수지로 건조한다.

항원과 혈액을 충분히 혼합하기 위해 검사판을 좌우로 수회 움직여 응집을 용이하게 한다.

항원은 제조자의 지시대로 사용한다.

(d) 다른 응집반응과 같이 각단계의 반응을 볼 수 있다. 혈액 응집능이 높을 수록 응집이 빠르고 또 응집 덩어리도 크다. 주위에 투명한 항원 덩어리가 명백히 생길때 양성으로 한다.

배경을 회계하면 용이하게 식별할 수 있다. 약한 반응은 주의가 부분적으로 투명한 작은 명료한 항원괴가 생긴다. 이러한 반응과 음성 혹은 균일한 액과의 중간 반응으로서 육안으로서 확인 할 수 있는 미세한 과립이 생기는 수가 있으나 진단적 가치는 없다.

전조 직전에 미세한 과립이 생기는 일이 있으나 음성으로 판정한다.

음성 일때는 균일한 액으로 변화가 없다. 항원이나 방법이 다를 때 감수성의 다른것을 고려하여 언제나 각각의 성적에 대해서 정확한 판단을 하지 않으면 아니된다. 즉 재차 계군의 영역에 대해서도 고려하지 않으면 아니된다. 의반응을 나타내는 개체가 존재하는 계군에서는 *Sal Pullorum* 의 존재 유무를 결정(決定)하기 위하여 대표제에 대해서 세균검사를 하는 것이 좋다.

4. *Sal Typhimurium* 의 시험관 응집반응

(a) *Sal Typhimurium* 의 시험관 응집반응의 시기와 혈액 채취와 배부하는 방법은 제2장 제1항(a)와 같다.

(b) 0항원은 다음과 같이 만든다.

(1) 항원 : 항원 구조가 명확한 운동성이 없는 *Sal Typhimurium* 의 대표주로 제조하여 높은 응집능을 나타내지 않으면 아니된다.

P 10주가 이 조건에 적합하다.

(2) 보존주는 1% 배양한천중에 보존하여 30°C 에 18~24시간 배양한다. 배양후는 실온에 보존한다.

(3) 세균배양에 사용하는 배지는 어린소의 한천(DiFiCo)이 적합하다. 스크립 마개가 있는 500 ml 약병에 50ml의 한천을 분주하여 15 LB의 압력으로 20분간 멸균한다. 배지가 굳을때까지 병을 수평으로 정지한다.

(4) 0항원 제재용의 주(株)는 비운동성의 *Sal Trphimurium* 으로 한다. 37°C 에 18~24시간 균을 어린소의 액체배지(DiFiCo)에 배양하여 단일 Colony 을 분리하기 위하여 어린소의 한천배지에 이식(移植)한다. 이 한천 배지를 37°C 에 18~24시간 배양후 단일 Colony 를 메어 어린소의 육집한천 사면배지에 이식하여 37°C 에 18~24시간 배양한다.

신발매

양돈용 철제주사기 입하 (일본제)



덕수가축약품상사
서울 중구 태평로 2가344-3
TEL. 28-0645