

實驗動物에 Mycoplasma Pulmonis 의
培養 및 血清學的 試驗

金在淵 · 李龍熙

國立保健院 安全性 研究部 및 建國大學校 基礎科學研究所

**Studies on the Cultural and Serological
Tests of Mycoplasma Pulmonis in Laboratory Animal.**

Jae Yeon Kim DVM, MS and Yong Hee Lee* DVM, MS

*Department of Safety Research
National Institute of Health, Seoul, Korea
Institute of Basic Science, Kon-Kuk University

Abstract

This studies were carried out to investigate the high infection sites from various specimens, cultural isolation on the susceptible media and specific antibody titres of *M. pulmonis* in experimental 310 mice and 330 rats obtained from two breeding facilities. Efficiency of complement fixation test (CF test) for detection of *M. pulmonis* antibody in mice and rats were compared directly with the diagnostic cultural isolation method.

1. Isolation rates of *M. pulmonis* among infection sites were about 30% from the oral cavities and 40% from the middle ear of mice. The rates were 100% from the nasal cavities and 90% from the oral cavities of rats.
2. The infection rates were 12% to A group and 16% to B group of mice. The rates in the rats were 55% to A group and 70% to B group.
3. The *M. pulmonis* antibody titres by CF test were 73% of total 100 mice in serum dilution below 1:5 ($< 1:5$), and 24% of total samples in antibody titres above 1:5 ($> 1:5$), but 3 samples were not showed anticomplementary activities. The antibody titres in rats were 35% of 120 rats in below 1:5 ($< 1:5$), and 61% of total samples in above 1:5 ($> 1:5$), but the remained were not showed anticomplementary activities.

緒 論

Mycoplasma는 1898年 Nocard 등에 의하여 최초로分離된 이래 이들에 대한 生物學的 및 血清學的 特性에 關한 研究가 活發히 이루어져 왔다.

특히 이 菌屬은 形態學的 特徵에서 細胞壁을 가지고 있지 않으므로 細菌과는 다르며 抗菌劑인 Penicillin 과 같은 細胞壁合成에 障碍를 일으키는 抗菌劑에 對해서도 低抗이 된다.

설치류에 대한 Mycoplasma의 研究는 1940年代 Klinberger(1940) Nelson(1940) 등에 의하여 慢性呼吸器性 疾病의 原因菌으로 밝혀진 이래 本格的으로 實施되었다. Lemcke 등(1964)은 血清學的方法에 의하여 설치류에 病原성을 나타내는 Mycoplasma (M.)를 M. Pulmonis M. neurolyticum 그리고 M. arthritidis 3種으로 分類 報告하였다. 이들 중 M. Pulmonis 와 M. neurolyticum은 種間的 生物學的 性狀과 生化學的 特性이 서로 類似하기 때문에 糖, 蛋白質 그리고 基質의 分解 등에 依한 方法으로는 同定이 어려운 實情이다. 血清學的方法에 依한 同定은 1953年 Nicol 과 Edward가 特異的인 抗體에 依해 Mycoplasma의 成長이 抑制되는 것에 着眼하여 成長抑制法(Growth inhibition test)을 開發하였다.

Purcell 등(1967)과 Fallon 및 Jackson(1967)은 流動培地內에서 Mycoplasma의 特異的인 抗體에 依해 Mycoplasma의 成長이 抑制되고 代謝障碍 現象이 일어남을 利用하여 代謝抑制法(Metabolic inhibition test)을 研究 開發하였다. 그러나 이 方法은 成長抑制法에 依한 境遇보다 敏感하나 糖分解能力이 없는 Mycoplasma의 同定에는 不適合한 것으로 指適되었다. (Taylor-Robinson & Chanock, 1966) 最近에는 Fluoro-

chrome을 使用한 直接法에 依한 同定方法이 利用되고 있다. (Hessling et al., 1980)

M. Pulmonis는 설치류에서 Murine Respiratory Mycoplasmosis(MRM)을 일으키는 原因菌으로서 특히 랫트에 높은 感染率을 나타낸다. (Kohr & Kirk, 1969; Lindsey et al., 1971; Jersey et al., 1973)

이밖에 M. Pulmonis에 感染된 動物이 實驗에 供與될 때에는 實驗結果의 正確성에 重大한 影響을 미치기 때문에 이에 對한 正確한 診斷法과 早期檢査가 要望되고 있는 實情이다. Mycoplasma의 診斷을 爲해서는 培養에 依한 檢査, 病理組織學的檢査, 血清學的 檢査 등으로 大別할 수 있으나 各已 여러가지의 長短點을 가지고 있다.

培養에 依한 檢査는 血中 抗體가 形成되기 전의 初期感染에 行할 수 있는 唯一한 方法이나 長時間이 所要된다는 短點도 있다. 血清學的方法에 依한 檢査는 血中 抗體가 形成된 후의 初期感染이 行할 수 있는 長點은 있으나 血中 抗體가 生成되기 以前이나 特異的인 抗體가 生産되지 못한 境遇에는 檢査를 行할 수 없다. Lemcke(1961)에 의하면 Mycoplasma를 人爲的으로 感染시키거나 또는 自然感染된 마우스와 랫트에서 補體結合反應에 依한 特異抗體를 測定하였을 때 感染程度와 크기에 따라 抗體價가 增加된다고 하였다 따라서 血清學的方法에 依한 特異抗體價의 測定은 Mycoplasma의 感染指標로 活用할 수 있다. 現在까지 Mycoplasma의 診斷을 爲하여 呼吸器系의 培養檢査와 血清學的 診斷法인 補體結合反應을 併行하여 實施하여 왔다. (Kraft et al., 1982)

따라서 國內에서도 實驗動物에 對한 微生物學的 品質管理의 重要性이 強調되고 SPF (Specific Pathogen Free) 動物生産이 本格化됨에 따라 實驗動物에서 Mycoplasma에 對한 正確한 感染率의 調査와 早期診斷의 必

要성이 增大됨에 따라 實驗動物中 于先 마우스와 랫트에서 M. Pulmonis의 感染率을 相互比較하여 올바른 診斷方法의 確立과 疫學的 對策을 樹立하여 實驗動物의 品質向上에 도움이 되고자 本試驗을 實施하였다.

材料 및 方法

1. 材料

(1) 實驗動物

實驗動物은 系統, 性別, 年齡의 區分없이 마우스 총 310 首와 랫트 330 首를 選別하여 供試하였다.

(2) 試驗菌株

Mycoplasma Pulmonis NIH-1을 사용했다.

(3) 使用된 培地

本試驗에 使用한 固形 및 流動培地는 Hyf-lick 方法(Chanok, 1962)에 準하였으며 그 成分 및 培地造成은 Table 1과 같다.

(4) M. Pulmonis 抗原, 抗血清, 溶血素 및 Butter 溶液

① M. Pulmonis 抗原 및 抗血清은 日本 Tenka 生研株式會社製產品으로 抗血清은 本試驗의 對照血清으로 使用하였으며 그 力價는 1:20 이었다. 한편 抗原은 1:8로 稀釋하여 使用하였다.

② 補體는 國立保健院에서 飼育中인 健康한 숫컷 기니피그를 1日 絶食시킨후 採血하였다. 採血後 血清을 分離하여 0.2 ml 씩 分注하여 冷凍庫內에 保管하였다.

③ 溶血素는 健康한 緬羊으로 부터 섬유소

Table 1. The composition of cultural medium for isolation of M. pulmonis from mice and rats.

Components	Solid medium	Liquid medium
Bacto PPLO agar(g)	2.4	-
Bacto PPLO broth (without crystal violet)	-	1.47
Maltose(g)	-	0.5
Phenol red(g)	-	0.0018
Distilled water (ml)	70	70
Horse serum(ml)*	20	20
Yeast extract(ml)**	10	10
Tallium acetate(ml)(1% w/v)	2.5	2.5
Penicillin	1000 IU/ml	1000 IU/ml

* Donor horse serum, KC biological lenexa, kansasa

** Suspend 250g of baker's yeast in litre of de-ionized water. Heat at 100°C for 30 min., cool rapidly and clarify by centrifugation(M. S. E. Major, 2000 rpm/min, for 30 min at 800G) Discard the sediment and re-centrifuge the supernatant if necessary. Dispense in 10ml amounts, autoclave at 115°C for 10 min., and store at -30°C.

를 제거시킨 全血의 血球를 分離하여 5%로 浮游시켜 0.5 ml, 1 ml, 1.5 ml, 2 ml, 2 ml씩 5回 皮下注射하였다. 3日後 0.1% Magnesium Sulfate를 添加한 食鹽水(0.85%)에 緬羊血球를 20%로 浮游시켜 靜脈內로 토끼에게 追加 免疫하였다. 最終注射後 3日째에 採血하여 血清을 分離한 후 同量의 그리세린과 混合하여 Stock Sol.으로 하고 冷藏庫에 保管하고 實驗時는 1:100으로 稀釋한 溶血素를 使用하였다.

④ Veronal buffer 溶液은 美國 NCTR (National Center for Toxicology Research)의 바이러스 確認을 爲한 標準指針書 (NCTR, 1973)에 準하여 Stock Sol.을 製造하고 冷藏庫에 保管하였다.

⑤ 2% 緬羊血球液은 國立保健院에서 飼育中인 健康한 緬羊에서 無菌의으로 採血하여 同量의 Alserver 溶液 (NCTR, 1973)이 미리 含有된 容器에 넣어 凝固를 防止케 하고 冷藏庫에 保管後 血球를 分離하여 2%로 浮游液을 만들어 使用하였다.

(5) Dienes Stain 製造

美國 NCTR의 *M. Pulmonis* 同定에 關한 指針書에 準하여 製造하여 確認하였다.

2. 方 法

1) 培養에 依한 感染率 調査

① 各 採取部位別로 滅菌된 면봉으로 可檢物을 採取하여 固形培地와 液體培地에 接種한 후 37℃ 孵卵室에서 2週間 培養하였다. 固形培地에서 자란 集落을 解剖顯微鏡(X40)으로 檢鏡하여 典型的인 "fried egg" 形態를 나타내는 集落을 陽性으로, 液體培地에서는 標準菌株와 比較하여 色相變化(赤色→黃色)와 培地の 增菌程度에 따라 陽性으로 하고,

② 採取部位別 分離率이 가장 높았던 鼻腔內 可檢物 培養時 陽性反應을 보이는 것을 다시 Dienes Stain에 依하여 確認後 最終陽

性으로 하였다. 確認實驗으로 Diense Stain 한방울을 덮개유리에 끌고루 퍼지게 도말하고 乾燥後 이를 集落表面에 눌러놓고 顯微鏡下에서 檢鏡時 脫色이 되지 않는 集落을 陽性으로 하였다.

2) 補體結合反應(CF test)에 依한 抗體調査

(1) 豫備試驗

① 溶血素의 力價測定

美國 NCTR의 바이러스 確認을 爲한 指針書를 多少 修正補完하여 實施하였다. 力價測定에 使用되는 溶血素를 生理的食鹽水로 1:100으로 稀釋하여 使用하였으며 補體는 1:30, 緬羊血球는 2% 浮游液으로, 완충액은 Veronal 완충액을 各各 使用하였다. 測定結果 溶血素의 力價는 1MHD(Minimum Hemolytic dose)가 1:6,000이므로 最終力價는 2MHD인 1:3,000으로 稀釋하여 써야 한다.

② 補體의 力價試驗

病原微生物檢査基準(1985, 國立保健院)에 依하여 實施하였다. 冷凍庫에 保管된 기니피크 血清을 녹인後 力價測定으로 한단위가 1:150임에 따라 두단위는 1:75이었다.

(2) 本試驗

이 試驗은 Microplate 方法(1984, 日本 Tenka 生研發行)을 多少 修正 補完後 測定하였다. 試驗時 두단위의 溶血素 및 補體, 2%의 緬羊血球, 抗原은 日本生研製品을 各各 使用 하였다.

먼저 各動物에서 心臟採血後 血清을 分離 0.1ml에 Veronal 완충액 0.4 ml를 混合하며 1:5로 稀釋하였다. 이것을 即時 56℃ 30分間 非働化시킨후 Microplate에서 1:160까지 0.025 ml씩 段階別로 稀釋하여 最終檢體量이 0.025 ml가 되게 하였다.

抗原 0.025 ml 및 補體 0.05 ml를 各各 加

하여 Sealing tape로 봉한 후 Micromixer로 잘 혼합한 후 4℃ 냉장庫에 24時間 이 미 放置시킨 2MHD 溶血素와 2% 綿羊血球를 同量混合한 Sensitized sheep erythrocyte(感作綿羊赤血球)를 0.05 ml 添加 Micromixer로 잘 혼합, 37℃ 恒溫槽에서 1時間 放置하였다. 이것을 냉장庫에서 1日 放置 후 溶血有無를 確認하였다.

本實驗과 同時에 標準抗血清(1:20)을 使用하여 對照試驗을 實施하여 比較하였으며 測定結果 完全 溶血을 일으키지 않는 最大血清 稀釋 倍數를 抗體價로 表示하였다. 다만 1:5 이하의 抗體價는 陰性으로 判定하였으며 이 試驗을 爲한 器資材와 取扱方法은 美國 NCT R(1973) 및 日本 Tenka 生研 方法에 따랐다.

結 果

1. 培養檢査에 依한 M. Pulmonis의 感染率

(1) 各動物에서 採取部位別 分離率은 Table 2와 같다.

陽性率이 높은 採取部位는 랫트에서는 鼻腔, 氣管枝, 口腔의 順으로 나타났으며 마우스에서는 口腔, 眼, 鼻腔이 多小 높았으나 랫트에 비하여 낮았다.

(2) 各動物別 分離率은 Table 3과 같다. 마우스의 경우 固形培地에서 陽性率 14% 流動培地에서는 8%로 平均 11%로 나타났다. 그러나 랫트는 固形培地에서 58% 流動培地에서는 81%, 平均 75%로 마우스에 비하여

Table 2. Isolation rate of Mycoplasma pulmonis from various sampling sites of the rat and mouse.*

Animals	Medium	Sampling sites						
		Eye	Ear	Lung	Joint	Mouth	Nose	Trachea
Rats	Agar	2 (20)	3 (30)	4 (40)	0 (0)	9 (90)	10 (100)	10 (100)
	Broth	0 (0)	8 (80)	2 (20)	0 (0)	9 (90)	10 (100)	9 (90)
Mice	Agar	0 (0)	4 (40)	0 (0)	0 (0)	2 (20)	2 (20)	1 (10)
	Broth	1 (10)	1 (10)	0 (0)	0 (0)	3 (30)	2 (20)	1 (10)

* 10mice and 10 rats for each site

() Percent

Table 3. Isolation rate of Mycoplasma pulmonis in two types of culure-media from rats and mice.

Medium	Mice	Rats
Agar	14/100*(14)	58/100(58)
Broth	8/100(8)	81/100(81)
Total	22/200(11)	149/200(75)

* No. of positive reaction/No. of animal examined.

() Percent

높은 分離率을 보였다.

(3) 마우스에서 培養에 의한 分離率은 Table 4와 같다.

마우스인 경우 A 飼育場에서 50件中 6件, B 飼育場에서 50件中 8件으로 各各 12% 및 18%의 分離率을 보였다. 랫트에 있어서는 Table 5와 같이 A 飼育場에서 60件中 33件, B 飼育場에서 60件中 42件으로 各各 55

Table 4. Isolation rate of *M.pulmonis* from the mouse colonise.

Mouse colonies	No. of mouse	No. of positive reaction	Ratio of positive reaction(%)
A	50	6	12
B	50	8	16
A + B	100	14	14

Table 5. Isolation rate of *M.pulmonis* according to the rat colonies and age.

Rat colony	Age (weeks)	No. of rat	No. of positive reaction	Ratio of positive reaction(%)
A	4	30	13	43
	10	30	20	67
B	4	30	14	47
	10	30	28	93
A + B	4	60	27	45
	10	60	48	80
Total		120	75	63

% 및 70%의 分離率을 나타냈다. 年齡에 따른 分離率은 4週齡이 A飼育場에서 30件中 13件, B飼育場에서 30件中 14件으로 各各 43 및 47%로 平均 45%를 나타내었다. 10週齡 動物은 A飼育場에서 30件中 20件, B飼育場에서는 30件中 28件으로 各各 67 및 93%로 平均 80%의 分離率을 보였다.

이 結果로 보아 랫트가 마우스보다 현저히 높은 分離率임을 알 수 있다.

Table 6. Antibody titres of *M.pulmonis* in mice by complement fixation test.

Antibody titre	Mice colonies		Total
	A	B	
1:5	40(80)**	33(66)	73(73)
1:5	8(16)	15(30)	23(23)
1:10	1(2)	-	1(1)
1:20	-	-	-
UD*	1(2)	2(4)	3(3)
1:5	40(82)	33(69)	73(75)
1:5	9(18)	15(31)	24(25)

UD* Undetermined because of anticomplementary activity.

()** %.

Table 7. Antibody titres of *M.pulmonis* in rats by complement fixation test.

Antibody titres	Rat colonies				Total
	A		B		
	4 wk.	10 wk.	4 wk.	10 wk.	
1:5	20(66)	7(22)	15(50)	0(0)	42(35)
1:5	4(13)	2(7)	11(37)	1(3)	19(16)
1:10	2(7)	5(17)	2(6)	4(13)	13(11)
1:20	2(7)	5(17)	1(3)	10(33)	17(14)
1:40	-	7(23)	-	3(43)	10(17)
1:80	-	2(7)	-	2(7)	4(3)
UD*	2(7)	2(7)	1(4)	-	5(4)
1:5	20(71)	7(25)	15(52)	0(0)	42(36)
1:5	8(29)	21(75)	14(48)	30(0)	73(61)

*UD Undetermined because of anticomplementary activity

** () %

wk. Weeks treated.

2. 補體結合反應에 의한 M. Pulmonis의 抗體價動向

CF test에 의한 抗體價 및 感染率은 Table 6,7과 같다. 마우스인 경우 A飼育場에서 最高抗體價가 1:10, B飼育場에서는 最高抗體價가 1:5로 나타났으며 陽性反應을 보인것은 A飼育場에서 49件中 9件, B飼育場에서는 48件中 15件으로 18 및 31%로, 平均 15%의 陽性率을 보였다. 그러나 血清의 抗補體作用에 의하여 測定 不可能件數도 3%나 보였다. 랫트인 경우 週齡에 따라 A飼育場은 4週齡에서 特異抗體價가 1:5 이상의 陽性反應을 보인것은 28件中 8件으로 29%를 보였고 B飼育場에서는 特異抗體價가 1:5 이상의 陽性反應을 보인것은 29件中 14件으로 48% 感染率을 보였다. 10週齡 動物에서는 A飼育場에서 特異抗體價가 1:5 이상의 陽性反應을 보인것은 28件中 21件으로 75%, B飼育場에서 特異抗體價 1:5 이상의 陽性反應을 보인것은 30件으로 100% 모두 陽性率을 보였다. 週齡別로 比較하여보면 4週齡

動物은 最高抗體價가 1:20을 보인데 比하여 10週齡動物은 1:80으로 母體일수록 陽性率 이 높음을 알 수 있다.

3. 培養檢査와 補體結合 反應에 의한 M. Pulmonis 感染率 比較

Table 8은 마우스와 랫트에 있어서 M. p. pulmonis 分離同定率과 CF試驗에 의한 特異 抗體生成率과의 關係를 表示한 것이다. 마우스인 경우 A飼育場에서 培養檢査와 特異 抗體生成에 의한 陽性率은 6件中 4件으로 67%이고 B飼育場에서는 8件中 7件으로 87%를 보였다. 그러나 培養檢査에서 菌分離가 되지않는 檢體中 CF試驗 陽性率은 A, B飼育場 共히 11,19%이었다. 結果的으로 培養檢査 陽性率은 平均 14%로 CF試驗 陽性率 24%보다 比較的 낮게 나타났다.

랫트에 있어서는 A飼育場에서 培養檢査에 의한 菌分離 33件中 1:5 이상 抗體 陽性率은 23件으로 70%이고 B飼育場은 菌分離

Table 8. Relationship between the complement fixation test of M. pulmonis and isolation ratio from specimens of the mice and rats.

No. of animals	No. of culture	CF* antibody titre		
		≤ 1:5	≥ 1:5	UD**
Mice	A (50) Positive(6)	2(33)	4(67)	0 (0)
	Negative(44)	38(86)	5(11)	1 (2)
	B (50) Positive(8)	1(13)	7(87)	0 (0)
	Negative(42)	32(76)	3(19)	2 (5)
Rats	A (60) Positive(33)	7(21)	23(70)	3 (9)
	Negative(27)	20(74)	6(22)	1 (3)
	B (60) Positive(42)	5(12)	37(88)	0 (0)
	Negative(18)	10(56)	7(39)	1(50)

* CF Complement fixation.

** UD Undetermined because of anticomplementary activity.

42件中 抗體陽性率은 37件으로 88%를 보였다. 그러나 培養檢査 陰性反應中 CF試驗 陽性率은 오히려 A, B飼育場에서 各各 22%, 39%이었다. 따라서 M. pulmonis 分離成績과 CF試驗 陽性率은 平均 62%, 60%로 비슷한 結果를 보여 주었다.

考 察

Mycoplasma Pulmonis는 마우스와 랫트에서 慢性呼吸器疾患(MRM)이나 中耳炎을 일으키는 代表的인 微生物로서 랫트에서의 感染率은 상당히 높은 것으로 알려졌다.(Matsubara 등, 1985)

따라서 우리나라에서도 상당한 感染率이 豫想되므로 本試驗은 마우스와 랫트에서 이 菌에 대한 微生物學的 모니터링을 위하여 培養檢査에 依한 感染分布를 調査하고 血清學的 診斷法인 CF test에 依한 特異的인 抗體價에 依한 陽性率을 相互 比較하며 아울러 環境의 差異에 依한 感染率도 比較調査하였다.

먼저 檢體採取部位別로 培養檢査中 陽性分離率을 보면 마우스, 랫트 共히 鼻腔, 口腔에서 分離率이 높게 나타났으며, 動物別陽性率은 마우스보다는 랫트에서 50% 이상 높게 나타났다. 이와같이 랫트에서 感受性이 높게 나타난 것은 Matsubara 등의 研究結果와 類似함을 알 수 있으며, 이에 반하여 培養檢査의 分離成績은 採取部位別, 系統間의 差異, (Saito, 1978; Davis & Cassell, 1982) 營養狀態 및 Sendai 바이러스등과의 重復感染(Howard et al., 1973) 培養期間 및 培地의 成分 등에 따라 感受性的 差異가 나타날 수 있다고 思料된다.

CF test에 依한 抗體價를 보면 마우스에서 最大抗體價는 1:10을 나타냈고 랫트에서는 1:80으로 높게 나타났다.

Matsubara 등(1985)이 自然感染된 마우

스에서 CF 抗體價는 最高 1:10, 랫트에 있어서는 1:80으로 報告한 結果와 같았으나 人爲的으로 感染시킨 경우 마우스에서는 最高抗體價가 1:60, 랫트는 1:320까지 나타난다고 報告한 結果와는 相異하였다. 그러나 Lemcke (1961, 1964)는 CF test 용으로 製造된 抗原에 따라 特異的인 抗體價는 아주 相異하게 나타난다고 하였다. 또한 本試驗에서는 어린 동물에 있어서 最高抗體價는 1:20임에 比하여 母體動物은 1:80으로 나타내었고 어린 동물에서 1:10 이상의 抗體價를 약 32% 보였으나 母體動物은 94%로 매우 높은 抗體價를 보인것은 感染機會가 많아 이菌의 侵入을 받은 것으로 豫想할 수 있다.

따라서 CF Test에 依한 抗體價 測定은 Mycoplasma Pulmonis의 血清學的 診斷에 중요한 指標가 된다고 思料되어 이 試驗에 依한 診斷的 價値가 매우 有効한 方法 이라고 報告하였다.(Fernald et al., 1967; Nakamura et al., 1970; Taylor-Robinson et al., 1966) 그러나 좀더 正確한 診斷方法인 即 (1) 培養에 依한 原因菌의 分離 및 同定試驗, (2) 형광항체 또는 特定抗體에 Peroxidase 등을 붙여 抗體檢査, (3) 血清學的 方法중 ELISA 試驗등, (4) 病理 臨床學的 所見에 依한 檢査 등을 들 수 있다.(Cassel & Hill, 1979; Cassel et al., 1979; David et al., 1981; Lindsey et al. 1978).

Mycoplasma의 感染은 대개의 경우 粘膜이나 粘膜表面에 限定되어 增殖하기 때문에 感染初期에는 血清學的 方法에 對한 效率性이 低下되어 培養檢査와 同時에 實施하는 것이 바람직 하다.

한편 Matsubara 등(1985)은 Mycoplasma Pulmonis를 鼻腔을 通하여 마우스에 人工感染을 시킨 경우, 接種 2週미만에는 補體 結合反應에 依한 血中 抗體를 認定할 수 없었음을 報告하였다.

培養檢査에 依한 陽性分離率과 血清學的 抗體價와의 關係를 比較해 보면 Table 8 에서 보는바와 같이 培養檢査 陰性反應이 CF test 陽性反應을 보인것은 랫트에서 36% 마우스에서 15%를 나타내었다. 이어서 마우스에서는 培養檢査 陽性反應이 CF test 陰性反應을 보인것은 21% 랫트에서는 16%로 나타났다.

Kraft 등(1982)은 CF test 의 有効성이 낮음을 報告한 內容은 本 實驗과 類似하였다. 이러한 相異한 CF test 의 反應에 對하여 Clyde(1964)는 非特異的인 抗原에 依한 交叉反應의 結果로 分析하였다.

그외의 原因으로 M. Pulmonis 와 共通抗原을 갖고있는 微生物에 依한 感染과 產生된 抗體의 消失 및 M. Pulmonis 感染母體로부터의 移行抗體의 殘留가 原因이 될수 있다고 分析하였다. 따라서 血清學的 診斷法은 効率성이 떨어지는 原因으로 指摘되고 있다.(Jordan & Morgan, 1968)

以上과 같은 結果로 CF test 는 非特異性 이 높고 感受성이 낮음에 比하여 多小相異한 反應이 나타나지만 많은 動物을 신속히 診斷할 수 있으므로 感染分布를 調査하는데는 有用한 長點으로 本實驗에서도 確認할 수 있다.

따라서 보다 正確한 實驗結果를 얻기 爲해서는 M. Pulmonis 의 重要 宿主로부터 可檢物의 培養檢査와 補體結合 反應에 依한 血清學的 診斷方法을 併行한다면 信빙성 있는 資料를 얻을 수 있을 것으로 思料된다.

要 約

랫트와 마우스에 M. Pulmonis 의 感染率을 調査하기 爲해 마우스 310 首 랫트 330 首를 使用하여 이 菌에 依한 여러가지 親化性組織中 가장 높게 感染을 일으키는 部位와 各 採

取部位別로 檢體의 培養檢査 및 補體結合 反應에 따른 特異抗體 陽性率等の 實驗을 遂行하여 다음 結論을 얻었다.

1. 마우스와 랫트에서 M. Pulmonis 의 陽性率이 높은 部位는 마우스에서 口腔, 眼, 鼻腔順이고 랫트에서 鼻腔, 氣管枝, 口腔 順으로 나타났다.

2. M. Pulmonis 陽性率은 A 飼育場의 마우스 50 首中 6 首(12%)이며, B 飼育場에서는 8 首(16%)이었다. 한편 랫트에서 60 首中 33 首(55%)와 42 首(70%)로 各各 나타났다.

3. 랫트와 마우스에서 採取한 血清으로 補體結合 反應을 通하여 얻은 特異的인 抗體價가 1:5(<1:5)보다 낮은 경우는 마우스 100 首中 73 首(73%)이고 1:5 보다 높은 抗體價를 보인 경우에는 24 首(24%)이었으며 나머지 3 首(3%)는 抗補體機能으로 測定하지 못했다.

한편 랫트에서 1:5 보다 낮은 抗體價를 보인 경우에는 총 120 首中 42 首(35%)이고 1:5 보다 높은 경우 73 首(61%)의 陽性率을 보였으며 나머지 6%는 抗補體 機能으로 測定이 안되었다.

參 考 文 獻

1. Chanock, R. M., L. Hayflick, and M. F. Barile (1962). Growth on artificial medium of an agent associated with a typical pneumonia and its identification as a PPLO. Proc. Nat. Acad. Sci (Wash.) 48, 41-49.
2. Clyde, W. A. (1964). Mycoplasma species identification based upon growth inhibition by specific antisera. J. Immun. 92, 958-965.
3. Davidson, M. K., J. R. Lindsey, M. B.,

- Brown (1981). Comparison of methods for detection of *Mycoplasma pulmonis* infection in experimentally and naturally infected rats. *J. Clin. Micro.* in press.
4. Davis, J. K., and G. H. Cassell (1982). Murine respiratory mycoplasmosis in LEW and F344 rats: Strain differences in lesion severity. *Vet. Pathol.* 19, 280-293.
 5. Fallon, R. J., and D. K. Jackson (1967). The relationship between a rodent *Mycoplasma pulmonis*, and certain *Mycoplasmas* isolated from tissue cultures inoculated with material from patient with leukemia.
 6. Fernald, G. W., W. A. Clyde, and F. W. Denny (1967). Factors influencing growth inhibition of *Mycoplasma pneumoniae* by immune sera. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 126, 161-166.
 7. Hessling, J. J., S. E. Miller, and N. L. Levy (1980). A direct comparison of procedures for detection of *Mycoplasmas* in tissue culture. *J. of Immu. Meth.* 38, 315-324.
 8. Howard, C. J., E. J. Stott, and G. Taylor (1978). The effects of pneumonia induced in mice with *Mycoplasma pulmonis* on resistance to subsequent bacterial infection and the effect of a respiratory infection with Sendai virus on the resistance of mice to *Mycoplasma pulmonis*. *J. Microbio.* 100, 79-87.
 9. Jersey, G. C., C. K. Whitehair, and G. R. Carter (1973). *Mycoplasma pulmonis* as the primary cause of chronic respiratory disease in rats. *J.A.V.M.A.* 163, 559-603.
 10. Jordon, S. M., and E. H. Mogan (1968). The development of selectivity of protein absorption from the intestine during suckling in the rats. *Aust. J. Exp. Med. Sci.* 42, 499.
 11. Kleineberger, E. (1940). The pleuropneumonia-like organisms: Bacteriological features and serological relationships of strains from various sources. *J. Hyg.* 40, 204-222.
 12. Kohn, D. F., and B. E. Kirk (1969). Pathogenicity of *Mycoplasma pulmonis* in laboratory rats. *Lab. Anim. Care.* 19, 321-330.
 13. Kraft, V., B. Meyer, A. Chunert, F. Deereberg, and S. Rehnn (1982). Diagnosis of *Mycoplasma pulmonis* infection of rats by an indirect immunofluorescence test compared with 4 other diagnostic methods. *Lab. Anim.* 16, 369-373.
 14. Lemck, R. H. (1961). Association of PPLO infection and antibody response in rats and mice. *J. Hyg. Camb.* 59, 401-412.
 15. Lemcke, R. H. (1964). The serological differentiation of *Mycoplasma* strains (pleuropneumonia-like organisms) from various sources *J. Hyg. Camb.* 62, 199-219.
 16. Lindsey, J. R., H. J. Baker, R. G. Overcash, G. H. Cassell, and C. E. Hunt (1972). Murine chronic respiratory disease. *Am. J. Pathol.* 64, 675-716.
 17. Matsubara, J., T. Kamiyama, M. Saito, and M. Nakagawa (1985). Serological of *Mycoplasma pulmonis* infection in mice and rats by an enzymelinked immunosorbent assay. *Exp. Anim.* 34(1), 49-55.
 18. NCTR(1973). Laboratory procedure for identification of murine virus. Diagnostic

- division, 1-50.
19. Nelson, J. B. (1940). Infectious catarrh of the albino rat. I. Experimental transmission in relation to the rat of actinobacillus muris. II. The causal relation of coccobacilliform body. *J. Exp. Med.* 72, 645-662.
 20. Nicol, C. B., and D. G. Edward (1953). Role of organisms of the pleuropneumonia group in human genital infections. *Br. J. Bener. Dis.* 29, 141-150.
 21. Nocard, E., and E. Roux (1898). Le microbe de la peripneumonie. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)* 12, 240-262.
 22. Purcell, R. H., D. Wong, R. M. Chanock, D. Taylor-Robinson, J. Canchola, and J. Valdesuso (1967). The significance of antibody to Mycoplasmas as measured by metabolic inhibition techniques. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 143, 675.
 23. Saito, M., M. Nakagawa, K. Kinoshita, and Imaizumi (1978). Etiological studies on natural outbreaks of pneumonia in mice. *Jap. J. Vet. Sci.* 40, 283-290.
 24. Taylor-Robinson, et al. (1966). Serologic response to Mycoplasma pneumoniae infection. *Am. J. Epid.* 83, 287-298.
 25. 병원미생물 검사기준 (1985). 보체결합시험, 395-408, 국립보건원.
 26. Tenka Manual (1984). 보체결합시험용시약조 (50% 용액 micro법), p87-90, 첨부문서집 Tenka 생연주식회사.