

비교 피내 검사와 감마 인터페론 검사에 의한 우결핵의 진단

조윤상 · 김종만 · 정석찬 · 우승룡 · 김종엽 · 유한상* · 박용호* · 안종삼

국립수의과학검역원
서울대학교 수의과대학*
(1999년 2월 1일 접수)

Diagnosis of bovine tuberculosis by single intradermal comparative tuberculin test and gamma-interferon assay

Yun-sang Cho, Jong-man Kim, Suk-chan Jung, Seung-ryong Woo, Jong-yeom Kim,
Han-sang Yoo*, Yong-ho Park*, Jong-sam Ahn

*National Veterinary Research and Quarantine Service
College of Veterinary Medicine, Seoul National University**

(Received Feb 1, 1999)

Abstract : Since Robert Koch found tubercle bacilli in 1882, the studies on tubercle bacilli of human and animal had been carried out. Being old tuberculin(OT) introduced in 1890, the specificity of the diagnosis of tuberculosis has been improved by continual uses of heat concentrated synthetic medium(HCSM) and purified protein derivatives(PPD) tuberculin.

Now, two types of tuberculin test are used worldwide ; the single intradermal test(SIT) using bovine tuberculin and the single intradermal comparative tuberculin test(SICTT) using avian and bovine tuberculins. In the SICTT, each countries have used with different combination of both avian and bovine tuberculins' titers. However, this kinds of studies have not reported in Korea. Therefore, the studies on the combination of their tuberculins' titers were performed through intradermal test of guinea pigs sensitized with either *Mycobacterium bovis* or *M avium* and were examined in 10 cattles of SIT positive reactors. Also, IFN- γ assay, the latest diagnostic method of bovine tuberculosis, was experimentally applied to SIT positive reactors.

For determining the optimal titers, sensitized guinea pigs with *M bovis* and *M avium* were intradermally injected avian and bovine tuberculin. In guinea pigs sensitized with *M bovis*, bovine tuberculin 50 T.U. showed significant difference from all tested concentrations of avian tuberculin($p < 0.05$). In guinea pigs sensitized with *M avium*, there is significantly different between bovine tuberculin and avian tuberculin by 25 T.U.($p < 0.01$). Therefore, optimal titers of bovine and avian PPD tuberculins' titers for the SICTT in Korea were 5,000 and 2,500 tuberculin units, respectively, and the swelling differences between bovine and avian site in SIT positive reactors were above 3mm.

Also, in IFN- γ assay, the 9 SIT positive reactors were showed all the positive reactions.

Key words : single intradermal comparative tuberculin test, IFN- γ assay.

서 론

튜버클린(tuberculin)은 1890년 Robert Koch에 의하여 OT(old tuberculin)¹가 소개된 이래 사람과 동물의 결핵진단약으로 널리 보급 사용되어 왔다. 그후 OT의 특이성을 높이기 위해 HCSM(Heat concentrated synthetic medium)² 튜버클린, PPD(purified protein derivatives)³ 튜버클린으로 개량, 발전되었다. 우리나라에서는 1913년부터 1960년까지는 OT에 의한 열반응법으로 우결핵을 검사해오다가 1961년부터 1973년까지는 HCSM에 의한 피내반응법을 적용하였다. 1974년부터 1993년까지는 HCSM으로 1차 검사를 실시하고 양성우에 한하여 PPD에 의한 2차 검사를 실시하였으며⁴ 1994년부터 현재까지는 PPD에 의해 우결핵을 검사해오고 있다.

오늘날 세계적으로 우결핵검사를 위해 널리 사용하는 튜버클린 피내검사는 2가지 방법이 있는데 하나는 우형 튜버클린만을 사용하는 단일피내검사법이고 다른 하나는 우형과 조형 튜버클린을 사용하는 비교피내검사법이다⁵. 단일피내검사법은 유럽에서는 경축부, 복미, 호주, 뉴질랜드에서는 미근부 추벽의 피내에 접종하여 검사하고 있으며 유럽연합중 아일랜드와 영국을 제외한 나라들과 복미, 호주, 뉴질랜드 등에서 1차 검사로 실시하고 있다⁵. 우리나라에서는 실시하지 않고 있는 비교피내검사법은 아일랜드와 영국에서는 1차 검사로 실시하며 이 나라들 이외의 유럽연합, 복미, 호주 등에서는 2차 검사로 실시하고 있다⁵. 피내진단법의 민감성은 68-95%로 연구자들간에 다양한 차이가 있으며 특이성도 사용되는 튜버클린의 종류에 따라 74-99%인 것으로 알려지고 있다^{5,19}. 그러므로 다른 진단법에서와 마찬가지로 우결핵진단법에서도 이러한 특이성과 민감성의 문제점을 가지고 있다⁴. 특이성 측면에서 볼 때 *Mycobacterium paratuberculosis* 과 *M. avium* 감염이나 이전의 노출, 피부결핵(dermatitis nodosa), 환경 마이코박테리아와 우결핵균과 항원구조가 유사한 다른 세균(*Nocardiae*, *Corynebacteriae*,

Actinomyces 등) 등에 감작된 소가 튜버클린과 교차반응하여 비특이반응의 원인이 되며 이러한 소들은 양성우로 판정되어 살처분됨으로써 경제적 손실을 가져올 수 있다^{4,6,7}. 민감성 측면에서의 문제점은 결핵우가 우결핵검진에서 의음성반응을 보여 건강축에 전염원의 역할을 하는 경우이다. 이러한 의음성반응의 원인은 낮은 역가의 우결핵 튜버클린 사용, 불충분한 양의 접종, 탈감작 현상, 산후기의 면역저하 현상, 농장주의 비양심적인 수검자세, dexamethasone 등의 면역억제제 주사 등이다⁵.

그런데 매년 우결핵 검진에 의한 의음성우의 제거로 민감성 문제는 어느 정도 해결이 가능하지만 비특이반응에 따른 살처분에 의한 경제적 손실이 더욱 큰 문제점이며⁴ 이를 위해 특이성이 높은 진단법의 개발이 필요한 것이다.

이와같은 단일피내검사에 의한 의양성 반응을 제거하기 위해 유럽연합, 복미, 호주 및 뉴질랜드 등의 나라에서는 경축부 피내에 우형 결핵 PPD 튜버클린(PPD-B)과 조형 결핵 PPD 튜버클린(PPD-A)를 접종하여 그 종양차를 비교하는 비교피내검사법을 시도하고 있다⁵. 비교피내검사법 적용시 PPD-B와 PPD-A의 역가조합을 나라마다 다르게 적용하고 있는데 네덜란드는 각각 2,000 튜버클린 단위[tuberculin units(T.U.); 0.4 mg/ml]를 적용하며⁸ 영국에서는 PPD-B 5,000T.U.(1.0mg/ml)와 PPD-A 2,500T.U.(0.5mg/ml)를 사용하고 있다⁹. 또한 비교피내검사의 판정기준도 감염병력이 없었던 우군과 감염병력이 있었던 우군에 달리 적용하고 있다. 감염병력이 없었던 우군에서는 4mm 이상은 양성, 1-4mm는 재검사를 실시하며, 감염병력이 있었던 우군에서는 2mm 이상은 양성, 1-2mm는 재검사를 실시하고 있다¹⁰.

따라서 국내에서도 비특이반응우의 살처분으로 인한 경제적 손실을 줄이고 의양성우의 명확한 질병상태를 파악하기 위해 비교피내검사법의 적용이 필수적이라 하겠다. 그러므로 앞으로 이 방법의 적용을 위한 기술적인 자료가 요구되므로 본 연구에서는 국내에 적합한 비교피내검사용 PPD-B와 PPD-A의 역가를 설정하고 이를 단

일피내검사 양성우 10두에 적용하였으며 세포성면역에 기초한 실험실내 결핵진단법인 감마인터페론(IFN- γ) 검사를 실시하여 그 결과를 비교하였다.

재료 및 방법

공시균주 : *M bovis* AN5(ATCC 35726), *M avium* AV 14141(ATCC 35716)은 국립수의과학검역원에서 보관, 계대하고 있는 균주를 사용하였다.

공시재료 : PPD 튜버클린의 피내반응 역가검사는 국립수의과학검역원 실험동물실에서 생산된 기니픽(*Dunkin Hartley*종)을 이용하였으며 비교피내검사와 IFN- γ 검사는 야외목장의 단일피내검사 양성우에 대해 실시하였다.

Purified protein derivatives(PPD) 튜버클린 제조 :

가. 균 배양 및 PPD 튜버클린 제조 : *M bovis* 와 *M avium* 의 균배양 및 PPD 튜버클린 제조방법은 국립수의과학검역원의 제조방법을 따랐으며 약술하면 다음과 같다.

1) 균 배양 : Lowenstein-Jensen 사면배지(LJ, Lowenstein-Jensen medium base(Difco Co.) 37.2g, D.W. 600ml, whole eggs 1,000ml)에 발육된 공시균주의 균체를 spatula loop 로 따서 Sauton 배지(Asparagine 4.8g, Citric acid 2.4g, MgSO₄ 0.6g, K₂HPO₄ 0.6g, Ferric Ammonium citrate 0.06g, Glycerine 72ml, ZnSO₄ 0.0096g, CuSO₄ 0.0012g, Ammonia water 2.70ml, DW 1,200ml, pH 7.0~7.2)를 약 7ml 씩 소분한 매카토니병의 벽에 묻질러 액면에 균체를 부유시켜 37℃에 6주간 배양하여 균막을 형성시키고 300ml Erlenmeyer flask에 100ml씩 넣은 Sauton 배지 액면상에 조용히 띄우고 37℃에서 6주간 배양하였다.

2) PPD 튜버클린 제조 : 6주간 배양한 후 잡균오염 유무를 육안 및 항산성 염색으로 확인하여 오염되지 않은 것을 PPD 튜버클린 제조에 사용하였다. 이들을 잘 흔들어서 균막을 배지중에 완전히 가라앉혀 진탕부유시키고 100℃ 증기압에서 3시간동안 살균하였다. 살균된 것을 실온에서 냉각한 후 60~80 mesh 동망으로 여과하고 이어서 여과지로 여과하여 투명한 황갈색의 튜버클린 원액을 HCl이나 NaOH를 넣어 pH를 8.0으로 맞추고 40% TCA 용액을 튜버클린원액 부피의 1/10 되게 넣은 후 5℃에서 3시간동안 침전시켰다. 이 용액을 6,000rpm에서 30분간 원심침전한 후 상층액은 버리고 채취한 침전물을 1% TCA 용액, 아세톤, ethyl ether로 각각 두 번씩 세척한 후 37℃에서 하룻밤 두어 건조시켰다. 건조된 분말을

4℃에 보관하면서 PPD 튜버클린 제조에 사용하였다.

PPD 튜버클린의 회석 : PPD 튜버클린의 회석은 국립수의과학검역원에서 실시하는 방법을 따랐으며 약술하면 다음과 같다. 비교피내 검사용 PPD 튜버클린 2mg(건조중량)/ml 농도를 100,000T.U.로 하여 PPD 회석액[1/15M phosphate buffer(pH 7.1) 1,000ml, glycerol 100ml, sodium chloride 5g, phenol 5g, 0.6% gelatin]으로 회석하였으며 IFN- γ 검사용 PPD 튜버클린은 이를 0.01M PBS로 투석하여 실험에 사용하였다.

기니픽 감각과 PPD 튜버클린의 역가비교 : 기니픽의 감각과 PPD 튜버클린의 역가검사는 국립수의과학검역원에서 실시하는 방법을 따랐다.

가. 기니픽 감각 : PPD 튜버클린 생산시 100℃에서 3시간 살균하여 여과한 균체를 0.1% Tween-water로 2~3회 세척하고 아세톤과 ethyl ether로 다시 세척하여 37℃에서 완전히 건조시켰다. 균체유제액 제조에 사용할 유발은 미리 5% 석탄산액으로 세척한 후 70% 알코올로 닦고 다시 ethyl ether로 수분간 탈지한 다음 건조시켜 사용하였다. 유발내에 건조균체 5mg당 1ml의 멸균 incomplete Freund's adjuvant(Sigma Co.)를 가하여 잘 갈아서 균등한 유제액으로 만든 다음 *M bovis* 와 *M avium* 균체 유제액 당 체중 500g 되는 기니픽 4마리의 양후지 근육내에 각각 0.3ml씩 주사하여 감각시켰다.

나. PPD 튜버클린의 역가검사 : 각각의 균체로 감각시킨 4마리의 기니픽을 감각시킨 날로부터 6주후에 배부의 털을 양쪽으로 뽑고 한쪽에는 100, 75, 50, 25T.U.로 회석된 PPD-B를 0.1ml 피내 접종하였으며 다른 한쪽에는 같은 농도로 회석된 PPD-A를 0.1 ml 피내 접종하였다. PPD의 접종부위별 반응정도의 차이를 보상해주기 위하여 각 회석농도의 접종부위를 개체마다 달리하였다. 피내접종한 다음 24시간후 발적, 종창된 직경 크기를 측정하여 역가를 비교하였다.

비교피내검사 : 소에서의 비교피내검사방법은 Huitema가 실시한 방법을 따랐다⁸. 이를 약술하면 다음과 같다. 3번과 4번 경골아래의 경측부 피내의 털을 12.5cm 간격으로 깎은 다음 각각의 피부두께를 측정하고 위는 PPD-B를, 아래는 PPD-A를 0.1ml씩 피내 접종하였다. 피내접종 72시간 후에 피부 두께를 측정하여 접종부위 차이를 계산하였다.

IFN- γ 검사 : IFN- γ 검사는 Wood *et al*¹¹의 방법에 따라 전혈을 처리하였으며 IFN- γ EIA(enzyme immunoassay)

kit(CSL Ltd., Australia)를 사용하였다. 이 과정을 간단히 설명하면 다음과 같다. 소의 경정맥으로부터 무균적으로 채혈하여 헤파린나트륨(중의제약)을 20IU/ml 되게 처리하였다. 헤파린나트륨 처리후 6시간 이내에 24 well 조직배양용 플레이트(Nunc Co.)에 1 ml씩 6 well에 분주하였다. 분주된 전혈에 0.01M PBS(phosphate buffered saline, pH 7.2), PPD-B(300µg/ml), PPD-A(300µg/ml)를 100µl씩 2반복으로 첨가한 후 37℃, 5% CO₂ 조건으로 18시간 배양하였다. 배양이 끝난 플레이트를 1,200×g에서 20분동안 원심분리시켜 상층의 혈장을 조심스럽게 에펜돌프 튜브에 획득하였다. 이 혈장내의 IFN-γ 양을 IFN-γ EIA kit를 이용하여 측정하였다.

통계처리 : PPD-B와 PPD-A의 역가비교시험 결과는 paired Student's *t* test를 이용하여 회석배수간 피내반응차이의 유의성을 검증하였다.

결 과

감작기니픽에서 PPD 튜버클린 농도간 피내반응차이 : *M bovis* 와 *M avium* 의 사균체로 감작시킨 기니픽에 접종되는 PPD-B와 PPD-A의 회석농도는 Huitema⁸의 방법을 변용하여 100, 75, 50, 25T.U.로 회석한 후 PPD 튜버클린들의 농도간 피내반응차이를 관찰하였고(Table 1), 항원 농도간 유의성을 검증하였다(Table 2). 비교피내검사에 사용한 적정회석농도는 PPD-B의 경우 *M bovis*로 감작시킨 기니픽군에서의 회석농도별 PPD-A 반응에 대해 유의성 있는 반응차이를 보인 최저 PPD-B 농도를 선정하였으며, PPD-A의 경우 *M avium*으로 감작시킨 기니픽군에서의 회석농도별 PPD-B 반응에 대해 유의성 있는 반응차이를 보인 최저 PPD-A 농도를 선정하였다.

M bovis 감작군의 PPD-B와 PPD-A 피내접종 결과를 비교하여 보면 PPD-A 농도별 피내반응에 대해 모두 유의성 있는 차이를 보인 PPD-B의 최저농도는 50T.U.였다 ($p < 0.05$, Table 2). 한편 *M avium* 감작군에서는 PPD-B와 PPD-A가 25T.U.까지 유의성 있는 차이를 보였다($p < 0.01$).

Table 1. The difference of intradermal reaction between PPD-B and PPD-A by sensitized groups and concentrations of PPD

PPD types	PPD-B				PPD-A			
	100	75	50	25	100	75	50	25
<i>M bovis</i>	19.2±3.7 ^a	19.0±2.9	17.0±3.3	13.9±3.1	9.6±3.6	8.7±2.0	8.9±2.7	7.4±1.3
<i>M avium</i>	8.4±0.9	9.5±3.5	8.7±0.6	7.2±1.6	21.9±3.6	22.1±1.4	19.3±3.5	19.1±3.1

a : diameter(mm) of the reaction(mean±SD).

Table 2. Statistical analysis of the intradermal reaction to different concentrations of avian and bovine PPD tuberculin

Sensitized group	PPD(T.U.)	PPD-B				PPD-A			
		100	75	50	25	100	75	50	25
<i>M bovis</i>	PPD-B	100	-	-	-	5.5**	4.2**	4.7**	6.0**
		75	-	-	-	6.9**	5.6**	5.7**	8.3**
		50	-	-	-	5.0**	3.5*	4.7**	10.7**
		25	-	-	-	2.6*	1.7	2.5*	4.3**
<i>M avium</i>	PPD-A	100	5.3**	6.1**	5.6**	5.7**	-	-	-
		75	8.4**	8.5**	8.9**	11.3**	-	-	-
		50	19.3**	22.1**	13.6**	13.1**	-	-	-
		25	9.9**	8.8**	7.0**	7.6**	-	-	-

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$.

Table 3. The results of single intradermal cervical comparative test, IFN- γ assay and macroscopic examination for the single intradermal positive reactors

No.	Single intradermal test(mm)	Comparative test(mm)			IFN- γ assay (OD at 405nm)			Gross lesion (tubercle formation)
		PPD-B	PPD-A	B-A ^a	PPD-B	PPD-A	B/A ^b	
1	8	26.30	0.35	25.95	1.671	0.153	10.922	+
2	7	4.60	0.00	4.60	2.035	2.279	0.901	-
3	7	8.75	1.90	6.85	2.065	0.315	6.556	-
4	8	14.50	7.60	6.90	2.057	0.340	6.050	-
5	10	6.25	2.45	3.80	2.097	0.498	4.211	-
6	11	9.60	1.05	8.55	2.116	0.443	4.777	-
7	8	67.75	6.20	61.55	2.010	0.464	4.332	+
8	10	5.40	2.15	3.25	0.574	0.402	1.428	-
9	8	14.60	4.20	10.40	2.067	1.403	1.473	+
10	9	17.10	6.40	10.70	N.T. ^c	N.T.	N.T.	-

a: the difference of the skin thickness between avian site and bovine site((PPD-B)-(PPD-A)).

b: the ratio of OD at 405nm between PPD-B and PPD-A((PPD-B)/(PPD-A)).

c: not tested.

단일피내검사 양성우에 대한 비교피내검사, IFN- γ 검사 및 부검소견간의 비교 : 각각의 사군체로 감작시킨 기니피군에서의 PPD-B와 PPD-A간의 유의성 검정결과 (PPD-B : 50T.U., PPD-A : 25T.U.)와 Lesslie *et al*⁹가 적용한 농도를 고려하여 단일피내검사에서 양성우로 나타난 10두의 비교피내검사시 PPD-B는 5,000T.U., PPD-A는 2,500T.U.를 적용하여 72시간후 피내반응 차이를 관찰하였고 각각의 전혈에서 IFN- γ 생성량을 IFN- γ ELA kit를 이용하여 우결핵을 판정하였으며 이들 개체를 부검하여 주요 임파절에서 결핵 결절유무를 육안적으로 관찰하였다(Table 3). 비교피내검사 결과는 모두 3mm 이상이였다. 이들중 9두에 대해 IFN- γ 검사를 실시하였는데 모두 결핵 양성으로 나타났으며 부검시 결핵결절의 육안적 소견을 보인 개체는 3두였다(Table 3).

고 찰

우결핵에 감염되지 않은 동물들이 PPD-B의 피내접종에 대해 양성반응을 보인다는 것이 여러해 동안 문제시되고 있다. 이러한 비특이반응의 원인은 요내병 감염, 조형결핵균 감염, 피부결핵(dermatitis nodosa), 환경에 존재

하는 마이코박테리아 또는 *Nocardia*, *Corynebacteriae*, *Actinomyces* 등의 노출에 의해서 이다^{6,12,13}. 또한 비특이반응을 보이는 대부분의 개체는 PPD-A에 확실한 피내반응을 나타내며 PPD-B에 대해서는 훨씬 낮은 피내반응을 보인다¹³.

영국과 아일랜드에서 PPD-B를 이용하여 조사한 결과, 우결핵에 감염되지 않은 우군의 8~12%가 단일피내검사에서 양성반응을 나타내었다^{9,14-15}. 이렇게 의양성우의 출현이 많은 영국과 아일랜드에서는 단일피내검사의 비특이반응을 찾아낼 수 있는 비교피내진단법을 실시하고 있다. 이외의 유럽연합 나라들은 0.5~1%가 의양성반응을 보여 비특이반응의 문제가 그렇게 크지 않은 것으로 나타났다. 그러므로 이러한 나라들에서는 개체의 질병 상태를 명확히 결정하는 2차 검사로 비교피내진단법을 적용하고 있으며¹³ 북미, 호주, 뉴질랜드 등에서도 이와 같이 적용하고 있다⁵. 이렇게 이용되고 있는 비교피내검사는 PPD-B에 의한 피내반응이 비특이반응인지 아닌지를 판별할 수 있는 또다른 항원이 필요한데 이 진단법을 사용하는 모든 나라에서 PPD-A를 사용하고 있다. 또한 비교피내검사에 적용할 PPD-B와 PPD-A의 역가는 나라마다 달리 적용하고 있는데, 영국의 경우 PPD-B는 5,

000T.U., PPD-A는 2,500T.U.를 적용하고 있으며⁹, 네덜란드에서는 각각 2,000T.U.를 적용하고 있다⁸. 본 연구에서는 우형결핵균과 조형결핵균으로 감각시킨 기니픽에 PPD-B와 PPD-A의 농도를 달리하여 피내접종한 후 역가를 비교한 결과 비교피내검사에 적합한 역가조합이 PPD-B는 5,000T.U., PPD-A는 2,500T.U.로 나타났으며 이것은 영국의 PPD-B와 PPD-A 역가조합과 같았다.

본 연구에서 공시된 단일피내 양성우의 육안적 결핵 결절 소견을 보인 개체는 30%이었다. 이렇게 우결핵의 진단에서 병소우가 적은 원인은 여러가지가 있을 수 있다. 예를 들면 육안소견이 있으나 관찰되지 않을 수도 있으며 감염초기에 병변이 너무 작아서 육안으로 관찰할 수 없을 수도 있고 우결핵균 이외의 마이코박테리아 감염시 튜버클린의 민감성 때문일 수도 있다¹⁶. 따라서 무병소우의 출현이 중요한지 않은지는 우군의 병력에 달려 있으며 병소우가 있는 우군에서 무병소우가 나타나는 것은 비특이반응이 아닐 가능성이 많아서 그렇게 문제되지 않으나 결핵결절 병변을 발견하지 못한 우군에서 무병소우가 나타나는 것은 비특이반응일 가능성이 많아 경제적 손실을 유발하는 요인이 될 수 있다¹⁶. 가장 이상적인 진단법이라면 100%의 특이성과 민감성을 가져야 하지만 생물학적 진단법으로 이러한 진단효율을 달성하기는 불가능하며 더우기 두가지 요인 사이에는 서로 상반되는 결과를 초래할 수 있으므로 그 판정기준이 중요하다 하겠다. 진단법의 우수성을 차치하고라도 그 판정기준은 질병의 진단 및 근절에 있어 중요한 인자로 작용하므로 신중한 판정기준의 설정이 있어야 하겠다. 즉, 만약 판정기준을 더 낮춘다면 질병에 감염된 개체들은 더 많이 찾아낼 수 있지만 질병에 걸리지 않은 개체도 의양성 개체로 진단될 가능성이 더 높아진다⁵. 본 연구에서는 단일피내검사 양성우 10두의 비교피내 검사에서 모두 3mm 이상의 종창차를 보였다. 앞으로 많은 야외적용시험을 하여 우리나라에서도 유럽연합과 마찬가지로 감염병력이 없었던 우군과 있었던 우군에서 그 기준을 달리 해야할 것인지 또한 그 기준은 얼마로 해야 할 것인지를 결정해야 하겠다. 생산된 진단액(PPD-B, PPD-A)을 야외 적용하기 위해서는 이에 대한 특성시험, 무균시험, 방부제 정량시험, 안전시험, 동정시험 등의 진단액 제조허가시에 필요한 시험을 추가로 실시하여야 할 것이다. 최근 우결핵진단법으로 IFN- γ 검사를 이용한 방법이 소개되었다¹⁷. Wood *et al*¹⁸는 이 검사법

을 야외 12,000두에 적용한 결과 민감성이 93.6%로 나타나며 튜버클린 검사법에서는 65.6%로 나타난다고 보고하였다. 본 연구에서는 단일피내검사 양성우 9두에 IFN- γ 검사법을 적용한 결과 모두 결핵 양성으로 나타나 두 진단법간의 결과가 일치하였다. 단일피내검사에서 양성율이 낮은 우리나라에서는 북미, 호주, 뉴질랜드 그리고 유럽연합(아일랜드와 영국은 제외)과 같이 1차 단일피내검사의 양성우와 의양성우에 한하여 2차 검사로 비교피내검사를 적용하는 것이 비특이반응에 의한 경제적 손실을 줄일 수 있다고 사료되며 현행 피내검사법의 진단 시간과 노동력을 절감하고 피내검사법을 대체하거나 보완할 수 있는 진단법인 IFN- γ 검사법과 ELISA 진단법을 개발하는 것이 요구된다고 하겠다.

결 론

조형 결핵균과 우형 결핵균의 사균체로 감각시킨 기니픽에서 PPD-B와 PPD-A간의 농도별 피내반응 차이를 조사하고 유의성을 검정한 결과 PPD-B 5,000T.U.와 PPD-A 2,500T.U.가 유의성 있는 차이를 보인 최저 희석배수이었다($p < 0.05$). 단일피내검사 양성우 10두에 대해서 PPD-B 5,000T.U.와 PPD-A 2,500T.U.의 역가조합으로 비교피내검사를 적용한 결과 3mm 이상의 반응차를 보였으며 이들중 9두에 대해 IFN- γ 검사를 실시한 결과 모두 결핵 양성이었다. 개발된 비교피내검사법은 1차 단일 피내양성우 및 의양성우에 대한 2차 검사에 적용할 수 있으나 이의 실행을 위해서는 법적인 고려가 필요하다 하겠다.

참 고 문 헌

1. Koch RD. *Med Wechschar*, 17:101-110, 1891.
2. Dorset M, Henley RR. A synthetic medium for *M tuberculosis* with a description of the method of producing tuberculin. *U.S.D.A.*, 1934.
3. Seibert FB, Glenn JT. Tuberculin purified protein derivative: preparation and analysis of a large quantity for standard. *Amer Rev Tuberc*, 44:9-15, 1941.
4. 최철순, 김재학, 이현수 등. Bovine tuberculin 개량에 관한 연구. 1. 저온살균 처리된 우결핵균 배양여액 및 균체세포질 유래 PPD's의 특이성. *농시연보*, 17: 101-108, 1975.

5. Monaghan ML, Doherty ML, Collins JD, *et al.* The tuberculin test. *Vet Microbiology*, 40:111-124, 1994.
6. Karlson AG. Non-specific or cross sensitivity reactions to tuberculin in cattle. *Adv Vet Sci*, 7:147-181, 1962.
7. Worthington RW. Mycobacterial PPD sensitins and the non-specific reactor problems. *Onderstepoort J Vet Res*, 34:345-438, 1976.
8. Huitema H. Development of a comparative test with equal concentrations of avian and bovine PPD tuberculin for cattle. *Tijdschr Diergeneesk*, 98:396-407, 1973.
9. Lesslie IW, Hebert CN, Barnett DN. Comparison of the specificity of human and bovine tuberculin PPD for testing cattle; 2-South-eastern England. *Vet Rec*, 96:335-338, 1975.
10. Lesslie IW, Hebert CN. Comparison of the specificity of human and bovine tuberculin PPD for testing cattle; 3-National trial in Great Britain. *Vet Rec*, 96:338-341, 1975.
11. Wood PR, Corner LA, Rothel JS, *et al.* Field comparison of the interferon-gamma assay and the intradermal tuberculin test for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Aust Vet J*, 68:286-290, 1991.
12. Harrison BDW, Tugwell P, Fawcett IW. Tuberculin reaction in adult Nigerians with sputum positive pulmonary tuberculosis. *Lancet*, 1:421-424, 1975.
13. Schneider W, Augier J, Cavrini C, *et al.* Final report of the sub-group of the scientific veterinary commission on tuberculosis. *Commission of the European Communities*, 7:1-14, 1979.
14. Lesslie IW, Herbert CN, Frerichs GN. Practical application of bovine tuberculin PPD in testing cattle in Great Britain. *Vet Rec*, 98:170-172, 1976.
15. O'Reilly LM, MacClancy BN. *Irish Vet J*, 32:127, 1978.
16. Corner LA. Post mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Vet Microbiology*, 40:53-63, 1994.
17. Rothel JS, Jones SL, Corner LA, *et al.* A sandwich enzyme immunoassay for bovine interferon- γ and its use for the detection of tuberculosis in cattle. *Aust Vet J*, 67:134-137, 1990.
18. Rothel JS, Jones SL, Corner LA, *et al.* The gamma-interferon assay for diagnosis of bovine tuberculosis in cattle: conditions affecting the production of gamma-interferon in whole blood culture. *Aust Vet J*, 69:1-4, 1992.
19. Francis J, Seiler RJ, Wilkie IW, *et al.* The sensitivity and specificity of various tuberculin tests using bovine PPD and other tuberculins. *Vet Rec*, 103:420-435, 1978.