< Case Report >

PPD 음성으로 확인된 출하소의 결핵병 진단에

정 철* · 윤가리 · 라도경 · 김경미 · 이정구 · 김경호 · 이성모

인천광역시 보건환경연구원

A case of bovine tuberculosis from cattle shipment confirmed PPD negative herds

Cheol Jeong*, Ga-Ri Yun, Do-Kyung Ra, Kyoung-Mi Kim, Jung-Goo Lee,
Kyoung-Ho Kim, Sung-Mo Lee

Incheon Metropolitan City Institute of Health & Environment, Incheon 400-102, Korea

(Received 2 December 2013; revised 11 March 2014; accepted 1 May 2014)

Abstract

Thirteen dairy cows were diagnosed as bovine tuberculosis (BTB) based on pathological findings and PCR method from 74 dairy cows slaughtered in Incheon city. BTB was outbreaked 9 times in the farm from March 2010 to June 2013. The BTB confirmed cows were all negatives by intradermal test with PPD at 3 times. Recently, disagreement between BTB outbreak and intradermal test has been raised as a big problem. This phenomenon suggest that a new control programs are necessary at farm level as well as diagnostic level.

Key words : Bovine tuberculosis, PCR, dairy, slaughtered

서 론

국내에서 소 결핵병은 제2종 법정가축전염병으로 지정·관리되고 있으며 지속적으로 발생하고 있다. 최근에는 한우와 육우를 대상으로 결핵 검진을 확대 실시하여 많은 양성축을 색출해내고 있으며, 2009년 이후 도축장 출하소에서도 결핵병이 많이 검출되고 있다(Byun 등, 2007).

결핵균은 인형결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*), 우형결핵균(*M. bovis*) 및 조형결핵균(*M. avium*) 등으로 크게 세 가지 형태로 나누는데, 소에서의 결핵은 대부분이 우형결핵균으로 소에서 소로 감염되는 것이 일반적이나 사람이나 염소, 고양이와 같은 포유동물에서도 분리되기도 한다(Rahway, 1991). 소의 주요 증상은 식수, 유방 및 털밑 등의 림프절 종대, 기침

및 유량 감소 등 만성소모성으로 진행되는 경우가 대부분이나, 최근에는 특정한 임상증상의 발현 없이 감염되어 있는 사례가 늘어나고 있다(Kim, 2007).

도축장 출하소의 우결핵 판정은 해체검사에서의 결핵 의심병변이 발견된 경우 균 분리, 병리조직검사 및 유전자검사법 등을 실시하여 진단하며 사육농장에서는 튜버클린 피내반응법을 이용한 purified protein derivative (PPD) 검사법이 주로 표준검사법으로 사용되고 있으며(Monaghan 등, 1994; Lee 등, 2010), 이 외에 ELISA (Enzymed linked immunosorbent assay) 법과 interferon- γ 법이 있다(Lee 등, 2010; Shin 등, 2011). PPD법은 1880년 독일의 Robert Koch가 개발한 old tuberculin (OT)에서 유래되었으며 비특이 반응을 보완하여 사용하고 있다(Kim, 2007; Cho 등, 2009). 국내는 착유농장의 1세 이상의 젖소를 대상으로 연 1회 이상 검진을 실시하고 있으나, 비정형 항산균 감염과 같은 비특이반응에 의한 위양성 반응과 면역결

*Corresponding author: Cheol Jeong, Tel. +82-32-440-5645,
Fax. +82-32-440-5490, E-mail. iron0401@korea.kr

Table 1. History of tuberculin tests in A farm with bovine tuberculosis outbreak from 2007 to 2013

Test (PPD/slaughter)	Date	Livestock numbers	No. of positive (cows)	Results	Remark
Regular	07.06.20	96	-	All negative	BLV(24)*
Regular	08.07.24	76	-	All negative	
Regular	09.02.26	80	-	All negative	
Regular	10.03.19	81	2	New 1st(1)	BLV(1)
Recheck(1st)	10.06.16	89	7	Addition(2)	FMD outbreak
Recheck(1st)	10.09.09	78	6	Addition(3)	
Recheck(1st)	10.11.21	72	2	Addition(4)	
Recheck(1st)	11.03.09	70	-	All negative	FMD outbreak
Recheck(2nd)	11.05.06	73	-	All negative	Cessation(1st)
Slaughter	12.02.01	76	1	New 2nd(5)	
First check	12.02.08	76	-	All negative	
Recheck(1st)	12.04.12	92	-	All negative	
Recheck(2nd)	12.06.14	90	-	All negative	Cessation(2nd)
Slaughter	12.07.18	87	1	New 3rd(6)	
Regular	12.07.23	87	-	All negative	
Recheck(1st)	12.10.11	88	-	All negative	
Recheck(2nd)	12.12.17	97	-	All negative	Cessation(3rd)
Slaughter	13.04.04	88	1	New 4th(7)	
Regular	13.04.08	88	7	Addition(8)	
Slaughter	13.06.17	80	13	Addition(9)	Culling & BLV(13)
Total			40		

*Bovine leukemia virus outbreak (number of outbreak).

핍 등이 있는 소에서 위음성 반응을 보이는 개체가 있는 것으로 보고되고 있다(Kim, 2007). 또한 PPD 접 종법은 진단에 2~3일의 시일이 소요되고 인력 및 검진의 어려움 때문에 한·육우까지 확대 실시하기에는 한계가 있는 것이 사실이다.

본 증례는 인천시 소재 결핵병이 발생한 젖소목장에서 PPD 검사 음성으로 판정된 동거소의 도축장에서 해체검사에서 결핵병변을 확인한 사례를 보고하고자 한다.

증 례

발생농장 현황

인천 소재 젖소목장(A)은 총 두수 88두 중 50두를 착유하는 농장이었다. 2010년 3월에 실시한 PPD 정기검진에서 2두가 양성으로 판정되었고(1차 발생) 3회에 걸쳐 각각 7두, 6두, 2두가 양성으로 판정되었으며 2011년 5월에 실시한 동거소 검진에서 모든 소가 음성으로 판정되었다. 그 후 2012년 2월에 동일목장에서 도축장에 출하한 젖소에서 결핵병이 확진되어

Fig. 1. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in lymph node of slaughtered cows by amplification 16S rRNA with PCR. Lane M: Molecular weight marker (100 bp ladder), lane P: positive control (in kit, IS6110, 397 bp/IS1081, 222 bp), lane N: negative control(in kit), lanes 1-13: samples of slaughtered cows 1-13.

동거소에 대한 전 두수를 검사를 실시한 결과 음성으로 나타났다(2차 발생). 2012년 7월에 PPD 검진에서 음성으로 판정되어 출하된 소에서 또 다시 결핵 병변이 확인되었고(3차 발생) 동거소를 대상으로 전 두수 PPD 검사를 실시하여 2012년 12월 최종 결핵병 종식 보고를 하였고 총 9회의 검진에서 40두가 양성 판정을 받았다(Table 1).

이후 2013년 4월에 도축장으로 출하된 소 1두에서 결핵병변이 또 다시 발견되어 최종검사에서 양성이 확인되었으며(4차 발생), 동거소에 대한 PPD 검진에

Table 2. Results of intradermal test with PPD and necropsy findings of bovine tuberculosis positive cattle

No.	Age (month)	No. of PPD					Necropsy findings									Date of slaughter
							Lymph node					Organ				
		Total	2013	2012	2011	2010	Laryngo- pharynx	Mediastinal	Bronchial	Hilar	Etc	Tonsil	Lung	Thorax	Etc	
1	45	11	1	6	2	2	—	++	—	—	—	—	—	—	—	13.06.17
2	65	13	1	6	2	4	—	—	—	++	—	—	—	—	—	
3	62	13	1	6	2	4	—	—	—	+	—	—	—	—	—	
4	113	13	1	6	2	4	++	—	—	—	—	—	—	—	—	
5	68	13	1	6	2	4	—	++	—	—	—	—	—	—	—	
6	47	10	1	6	2	1	+	—	—	—	—	—	—	—	—	
7	51	13	1	6	2	4	+	—	—	—	—	—	—	—	—	
8	41	9	1	6	2	0	++	—	—	—	—	—	—	—	—	
9	47	11	1	6	2	2	—	—	—	++	—	—	—	—	—	
10	63	13	1	6	2	4	++	—	—	+	—	—	—	—	—	
11	79	13	1	6	2	4	—	+	—	—	—	—	—	—	—	13.04.04 12.07.18 12.02.01
12	50	13	1	6	2	4	—	—	—	++	—	—	—	—	—	
13	84	13	1	6	2	4	++	—	—	—	—	—	—	—	—	
14	58	12	-	6	2	4	—	++	—	++	++	—	—	++	—	
15	60	9	-	3	2	4	++	—	++	++	—	—	—	—	—	
16	49	6	-	-	2	4	—	++	++	++	+	—	—	++	—	

+++ Yellowish nodule, cheese-like materials, caseous necrosis; ++ Yellowish nodule; + Hypertrophy; — Negative.

서 7두가 양성으로 판정되었다. 이에 해당농가에 대하여 사육 전 두수에 대해 도태를 권고하였고 착유정지 및 농가소독 등을 실시하였다. 도태권고를 통해 총 80마리 중 송아지 6마리는 살처분을 실시하였고, 74두는 도축장으로 출하하였으며 출하우 중 13두에서 결핵 의심 병변이 관찰되어 PCR법(polymerase chain reaction, MT Detection kit, Solgent, Korea)으로 검사한 결과 모두 결핵 양성으로 판정되었다(Fig. 1).

결핵병으로 진단된 도축장 출하소의 개체별 이력은 Table 2와 같았다. 연령은 41개월부터 113개월령까지 다양하게 분포하였으며 PPD 검진은 최소 6회에서 최대 13회까지 접종한 개체들이었다.

육안적 병변 소견

발생농장에서 도축장으로 출하된 소에서 결핵병변이 발견된 16두를 대상으로 병변의 분포상황을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 최소 1곳 이상의 림프절에서 우결핵 부검 소견이 확인되었으며 2013년 4월 4일 이전에 출하된 결핵 병변이 확인된 개체 2두에서는 흉강에 진주양 결절을 보였으나 14두에서는 림프절 이외는 병변이 관찰되지 않았다. 결핵병변이 관찰되는 림프절은 주로 인후두림프절, 종격림프절과 폐문림프절이었으며 정상보다 2~3배 비대되어 있었고 절

Fig. 2. Detection of bovine leukemia virus (BLV) by nested RT-PCR. Lane M: Molecular weight marker (100 bp ladder), lanes 1-13: Lymph node of slaughtered cows with bovine tuberculosis.

단면에 노란색의 치즈양 물질이 가득한 결절이 보였고 일부 병변부는 석회화되어 모래를 자르는 듯한 느낌을 보였다(Fig. 2).

병리조직학적 소견

결핵 병변이 확인된 림프절의 병변 부위를 2 cm 미만으로 잘라 10% 중성포르말린에 고정한 후 파라핀처리하여 HE 염색을 실시한 결과는 Fig. 3과 같다. 림프절에 나타난 농양 결절부 가장자리는 결합조직의 증가 및 괴사조직이 존재하여 위막을 형성하고 있으며 바깥의 정상 림프절에는 소량의 출혈소견을 보였고 괴사조직 내에는 여러 개의 세포핵이 세포질 가

Fig. 3. Gross pathological findings of slaughtered cows with bovine tuberculosis. (A) Yellowish and cheese-like materials are filled in hilar lymph node. (B) Yellowish caseo-calcareous nodules are scattered in retropharyngeal lymph node.

Fig. 4. Histopathological findings of slaughtered cows with bovine tuberculosis. (A) Mediastinal lymph node, Necrotic cell debris and connective tissue is sporadically cohesive in the center of the left side (inside black arrow). Some red blood cells appear between normal medullary cord (H&E stain, $\times 100$). (B) Laryngo-pharynx lymph node. Langhans' giant cells (black arrow) were infiltrated in the lymphatic nodule (H&E stain, $\times 100$).

장자리에 묻혀있는 랑그한스 거대세포가 확인되었다.

고 찰

결핵은 인류 역사에서 중요한 전염병으로 자리매김하고 있으며 기원전 7천년 화석에서도 그 흔적이 확인되고 있다. 1883년 Robert Koch에 의해 원인체가 확인된 후 치료제가 개발되고 사람 및 동물에서 방역 대책을 실시하고 있으나, 호흡기를 통한 쉬운 감염과 빠른 전파력으로 인해 현재까지 지속적으로 발생하

고 있다. 세계보건기구에서는 ‘Global Tuberculosis Control Report 2011’ 보고서를 통해 전 세계적으로 1,200만 명이 결핵을 앓고 있다고 보고하였으며, 우리나라는 OECD 회원 국가 중 결핵 발생률과 유병률, 사망률이 가장 높은 것으로 보고되고 있다(WHO, 2011). 전 국민의 1/3인 약 1,500만 명이 잠복감염으로 추정되며, 2011년 한 해 동안 결핵 환자가 39,557 명으로 2005년 이후 매년 신규 결핵환자가 신고 되고 있다(강, 2013). 세계보건기구가 2015년까지 전 세계 결핵부담을 현격하게 줄일 것을 새천년 발전목표로 삼고 있을 만큼 결핵은 인류가 반드시 해결해야할 질

병 중 하나로 알려져 있다. 사람의 경우와 마찬가지로 소에서도 근절되지 않는 질병중 하나로 알려져 있는 것이 결핵이다. 결핵균은 일반적으로 분변에서 7개월 및 수중에서 400일 이상 생존 가능하여 소에서 임상증상 없이 감염되는 특징을 보인다(조, 2008).

이번 증례에서 결핵 발생농장은 2010년 PPD 정기검진에서 결핵 양성우가 발생한 이후 9회에 걸쳐 40두의 양성우가 검색되어 최종적으로 전 사육두수에 대한 도태를 권고하였다 그러나 최종 PPD 검진에서 음성으로 판정된 소에 대해 도축장으로 출하를 하였으나 도축장 해체검사에서 림프절에서 결핵병변이 13두에서 발견되어 PCR법으로 확인한 결과 우결핵 양성으로 확인되었다. 본 농장은 2010년 1차 결핵 발생시에 가축방역 당국에서 전 두수 도태를 권고하였으나 축주가 경제적인 이유로 도태를 시행하지 않았고 PPD 재검진을 실시하여 결핵병 음성으로 판정받았으나 재차 도축장 출하소에서 결핵병이 확인되어 최종적으로 전 두수 도태를 실시하게 되었다. 결핵에 이환된 소가 PPD 검사법에서 위음성을 나타내는 원인은 검사 개체의 면역반응의 결여로 판단된다(Pollock과 Neill, 2002). 결핵에 이환된 소가 소바이러스설사(BVD, bovine viral diarrhea)와 같이 면역억제 바이러스 질병에 동시 감염되었을 때 PPD 검진시에 위음성으로 나타날 가능성이 있다는 보고가 있다(Timoney 등, 1988).

PPD 검사법은 세포성면역을 유도하여 결핵 감염 여부를 검사하는 피부반응검사법으로 결핵균의 배양 산물인 PPD를 접종하여 그 개체가 이미 결핵균에 감염되었다면 항원(PPD)을 제거하기 위하여 면역세포들이 모이게 되고 접종 부위에 종창이 형성되는 것으로 감염증을 확인하는 방법이다. 그러나, 소가 감염되었다 하더라도 면역반응을 충분히 유도하지 못하는 감염 초기나 만성감염으로 이미 탈감작된 감염 말기에는 PPD 접종에 의한 피내접종검사에서 음성으로 나타날 수 있다(Timoney 등, 1988). 발생농장의 도축장 출하소에서 확인된 결핵병변은 미약한 것에서부터 실질장기에 결절을 보이는 것까지 다양한 병변 형태를 나타내었다.

일반적으로 결핵 감염 초기에는 하악, 횡격막 및 폐문 림프절을 비롯해 폐에 결핵병소를 형성하고, 감염이 진행됨에 따라 전이성 장기결핵이나 전신으로 균이 퍼져나가 포도송이 모양의 결핵 결절이 나타나는 것이 일반적이나, 개체의 저항력에 따라 병변이 다르게 나타나고 감염 초기나 만성감염 시 일부 림프

절에 국한되어 나타날 가능성이 있어 병변으로 질병의 진행정도를 확인하기는 어려운 것으로 알려져 있다(Kim, 2007). 이번 증례에서도 결핵의 육안적 병변과 질병의 진행정도가 비례한다고 보기는 어렵기 때문에 PPD 검진에서 결핵 음성인 13두가 우결핵 발생시기와 관련이 있는지는 실제 확인하기는 어려웠다.

한편 면역저하와 관련된 소백혈병에 대한 PCR 검사를 실시한 결과 소결핵병이 확인된 도축장 출하우 13두 모두가 소백혈병 바이러스의 특이유전자 부위가 검출되었다. 이러한 결과는 13두에 대하여 9번 이상 PPD 검사를 시행했음에도 양성개체를 색출하지 못했고 최근 도태하기 2달 전 검사에서도 음성이 나왔다는 것은 면역저하성 질병인 소백혈병에 의하여 활발한 면역반응이 유도되지 못하여 진단 결과에 영향을 준 것으로 생각된다.

농림축산식품부에서는 2013년 소 결핵병에 대한 검사강화와 조기 검사를 위해 PPD를 이용한 피내검사법 이외에 interferon- γ 진단키트를 개발하여 진단효율이 특이도 97.1%, 민감도 76.6%로 나타나 기존의 방법인 PPD법과 유사하다고 발표한 바 있다. 이처럼 새로운 진단법이 개발되고 가축방역현장에 도입될 예정이지만 백혈병과 같은 면역억제성 질병이 동시 감염되었거나 결핵병 감염초기나 만성 감염시에 나타날 수 있는 위음성 반응을 고려해 볼 때, 우선적으로 발생농장과 동거소에 대하여 이동제한 및 all in all out 정책의 의무화 등의 방역대책이 필요하다고 생각된다.

참 고 문 헌

- 강해영. 2013. 2011년 OECD 국가의 결핵 현황 분석. 질병관리본부 주간건강과 질병.
- 조운상. 2008. 동물결핵. 대한수의사회지 44: 803-818.
- Byun HS, Lee HJ, Lee SM, Han ST, Quak HK, Choi HY, Cho YS. 2007. Bovine tuberculosis found at slaughtered Korean indigenous cattles. Korean J Vet Serv 30: 407-414.
- Cho BJ, Chu KS, Cho YS, Kang MS, Lee JW. 2009. Epidemiological studies on bovine tuberculosis in mass outbreak region. J Vet Sci 32: 119-124.
- FSA. 2013. FSA statement on TB risk from meat. <http://www.food.gov.uk/news-updates/new/2013/jul/fsastatement-tbrisk>.
- Kim YH. 2007. Bovine tuberculosis. Korean J Vet Pathol 6: 53-60.
- Lee JJ, Kim DS, Lee JH, Lee CS. 2010. A comparative study on

- the diagnosis of ELISA test and PPD test of the bovine tuberculosis. Korean J Vet Serv 33: 335-340.
- Monaghan ML, Doherty ML, Collins JD, Kazda JF, Quinn PJ. 1994. The tuberculin test. Vet Microbiol 40: 111-124.
- Pollock JM, Neill SD. 2002. *Mycobacterium bovis* Infection and tuberculosis in cattle. Vet J 163: 115-127.
- Rahway NJ. 1991 The Merck Veterinary Manual. 7th ed. Merck & Co.
- Shin SW, Shin MK, Cha SB, Woo JT, Lee SM, Ku BK, Cho YS, Jung SC, Yoo HS. 2011. Comparison of tuberculin skin test with interferon- γ assay for the diagnosis of bovine tuberculosis in Korean cattle. J Vet Sci 51: 117-122.
- Timoney JF, Gillespie JA, Scott FW, Barlough JE. 1998. The Genus *Mycobacterium*. pp. 270-289. Hagan and Bruner's microbiology and infectious disease of domestic animals, 8th ed. Comstock Publishing Associates. Ithaca and London.
- WHO. 2011. Global Tuberculosis Control Report 2011. http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241564380_eng.pdf.