

## 닭 전염성 기관지염 바이러스의 혈청 유병률 연구에서 개별혈청과 합병혈청의 비교

김사림 · 권혁무 · 성환우 · 박선일<sup>1</sup>  
강원대학교 수의학부(대학) 및 동물의학연구소

(게재승인: 2006년 9월 22일)

### Comparison of Pooled Versus Individual Sera in Avian Infectious Bronchitis Virus Seroprevalence Study

Sa-Rim Kim, Hyuk-Moo Kwon, Haan-Woo Sung and Son-II Pak<sup>1</sup>

School of Veterinary Medicine and Institute of Veterinary Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

**Abstract :** Compare to testing sera individually, pooled-serum testing has considered as a cost-effective method, particularly on a large population-based seroprevalence studies. This study was to determine the relationship between individual sera and pooled sera titers for detection of avian infectious bronchitis virus (IBV) and to evaluate suitability of pooled sera by comparing prevalences estimated from both samples. A total of 5,000 individual samples were collected from 500 flocks in Chungcheong, Gyunggi, and Kangwon provinces between January 2005 and February 2006. Ten samples were randomly selected from each flock. Five-hundred pooled sera were prepared by mixing equal amount of each 10 individual serum from the original samples. IBV antibody titers were measured by hemagglutination inhibition (HI) test. The least squares regression analysis was performed to construct equation between pooled and mean individual titers. To determine whether the flock is infected 4 arbitrary criteria were used: detection of at least 1 chicken with HI titer  $\geq 9$  (criterion 1), detection of at least 2 samples with HI titer  $\geq 9$  (criterion 2), detection of at least 1 sample with HI titer  $\geq 10$  (criterion 3), and finally detection of at least 1 sample with HI titer  $\geq 11$  (criterion 4). The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to examine the cut-off points of pooled titers showing optimal diagnostic accuracy. The area under the curve (AUC), sensitivities (Se), specificities (Sp), and positive (PPV) and negative (NPV) predictive values were calculated. The regression equation between pooled titers (pool) and mean individual titers (mean) was:  $pool = 1.2498 + 0.8952 \times mean$ , with coefficient of determination of 87% ( $p < 0.0001$ ). The optimal cut-off points of pooled titers were titer 8 for criterion 1 (AUC=0.975, Se=0.883, Sp=0.959, PPV=0.985, NPV=0.728), titer 8 for criterion 2 (AUC=0.969, Se=0.954, Sp=0.855, PPV=0.926, NPV=0.907), titer 9 for criterion 3 (AUC=0.970, Se=0.836, Sp=0.967, PPV=0.978, NPV=0.772), and titer 9 for criterion 4 (AUC= 0.946, Se=0.928, Sp=0.843, PPV=0.857, NPV=0.921). The difference of prevalence estimated by individual and pooled sample showed a minimum of 2% for criteria 2 and a maximum of 9.2% for criteria 3. These results indicate that the use of pooled sera in HI test for screening IBV infection in laying hen flocks is considered as a cost-effective method of testing large numbers of samples with high diagnostic accuracy.

**Key words :** Chicken infectious bronchitis, HI, pooled sera, ROC curve, seroprevalence

## 서 론

닭의 전염성 기관지염 (avian infectious bronchitis, IB)은 전염성이 매우 높은 급성 질병으로 흔히 호흡기를 통하여 배출된 전염성 비말핵을 통하여 계군내 전파가 이루어지며 감염된 개체 간 직접적인 접촉이나 오염된 공기, 물, 사료 등을 통한 기계적 전파도 가능하다(18,24). 감염이 성립된 후

IB 바이러스(IBV)가 분리되는 빈도는 시간이 지남에 따라 감소하지만 맹장 편도에서는 감염 후 14주까지, 분변에서는 20주까지도 분리된다(2). 따라서 엄격한 계군관리를 실시하지 않는 농장에 IB가 일단 정착되면 감염 고리를 차단하는 것이 매우 어렵고 생산성에서 볼 때 증체율과 사료 효율의 저하, 난질저하를 포함한 산란저하 및 산란정지를 유발하므로 양계산업에서 경제적으로 중요한 질병이다(2).

IB를 진단하는 방법으로는 IBV를 직접 분리하거나 면역형광시험법, 역전사중합효소연쇄반응(RT-PCR), 한천겔침강법, 혈구응집억제반응(hemagglutination inhibition, HI) 검사, 효

<sup>1</sup>Corresponding author.  
E-mail : paksi@kangwon.ac.kr

소면역검사법(ELISA) 등이 사용되며(5,23) 검사법 자체에 내재된 특성 때문에 연구목적에 따라 다양하게 사용된다. 그 중에서 IB의 항체 역가를 측정하는 HI 검사는 질병의 초기 반응을 검출하는데 유용하여 백신 반응을 정기적으로 모니터링하거나 야외 감염에 의한 항체 역가의 변화를 확인하는 목적으로 흔히 사용되며 비용이 저렴하다는 장점으로 임상수의사가 선호하는 방법이다(2,15).

국가단위에서 대규모 모집단을 대상으로 혈청 유병률 (seroprevalence)을 조사하는 연구에서 개별혈청을 사용할 경우 검사비용과 인력이 많이 소요되는 문제점 때문에 대량의 시료를 검사해야 하는 상황에서는 비용효율적인 방법을 고려할 필요가 있다(1,3,11,13,19). 검사건수를 줄이는 한 가지 대안은 개별혈청을 통합한 합병혈청(pooled sera)에 대하여 검사하는 방법이다. 개별혈청과 합병혈청의 상관관계가 높을 경우 농장의 감염여부를 판정하거나 혈청 유병률을 추정할 수 있는 등 여러 가지 측면에서 장점이 있다(4,7,10). 따라서 저자들은 산란계의 호흡기형 IB에 대하여 HI 검사를 이용하여 개별혈청 역가와 합병혈청의 역가 간의 관계를 파악하고 두 방법에 의한 혈청 유병률을 비교함으로써 합병혈청의 임상적 활용 가능성을 알아보려고 본 연구를 수행하였다.

**재료 및 방법**

**혈청시료 및 역가측정**

2005년 1월부터 2006년 2월까지 강원대학교에 IB 혈청검사로 의뢰된 총 5,000수의 혈청을 분석에 사용하였다. 이 시료는 강원, 경기, 충북, 충남 소재 500개 산란계군에서 계군당 10수를 무작위로 채혈된 것이다.

IBV 역가는 기존의 문헌에 보고된 방법에 준하여 HI 검사로 측정하였다(12). 혈청을 56°C에서 30분간 비동화시킨 후 비특이반응을 제거하기 위하여 혈청 50 µl를 12.5% kaolin 현탁액 150 µl에 넣어 (혈청희석 농도 1:3) 실온에서 한 시간 동안 방치하였다. V형 플레이트에서 pH 6.5로 조정된 HEPES buffer saline을 25 µl씩 분주하고 희석한 혈청을 3000rpm에서 10분간 원심하여 kaolin을 침전시킨 상층액을 50 µl씩 넣은 후 25 µl씩 2진 희석을 하였다. 모든 well에 4 HAU로 희석된 IB항원 (대성미생물연구소)을 25 µl씩 분주하여 4°C에서 40분간 반응시키고 PBS 용액으로 희석한 1% 닭적혈구를 25 µl씩 분주하여 4°C에서 40분간 반응시킨 후 혈구응집억제가 일어나는 최고희석배수의 역대수 값을 항체 역가로 판독하였다. 한 계군의 10개 혈청을 15 µl씩 혼합한 총 500개의 합병혈청에 대하여 동일한 방법으로 HI 검사를 실시하였다.

**양성 판정 기준**

HI 검사결과에 대한 양성판정 기준이 확립되어 있지 않기 때문에 본 연구에서는 임상수의사와 학계 전문가의 조언에 근거하여 다음과 같은 임의적인 기준을 설정하였다. 즉 개별혈청항체 검사에서 9 이상인 역가가 적어도 1개 이상 검출

되는 경우 (기준 1), 9 이상인 역가가 적어도 2개 이상 검출되는 경우 (기준 2), 10 이상인 역가가 적어도 1개 이상 검출되는 경우 (기준 3), 11 이상인 역가가 적어도 1개 이상 검출되는 경우 (기준 4) 등 네 가지 기준을 적용하였다.

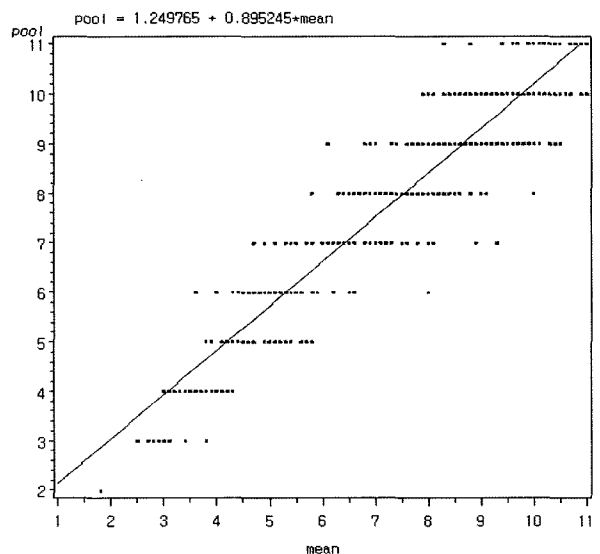
**통계분석**

개별혈청 역가의 평균과 합병혈청 역가의 관계는 최소제곱 회귀선을 적합시킨 후 결정계수(coefficient of determination, r<sup>2</sup>)로 판단하였다. 결정계수는 0-1의 범위를 가지며 계수 0은 합병혈청의 역가를 개별혈청의 평균역가로 설명하기 어렵다는 것을 의미하고, 계수 1은 100%의 설명력을 갖는다는 것을 의미한다. 합병혈청 역가의 최적 기준점 (optimal cut-off point)은 x축의 가양성률 (1-특이도)에 대응하는 민감도를 y축에 표현한 ROC (receiver operating characteristic) 곡선으로 평가하였다(9,22). 곡선 아래 면적 (area under the curve, AUC)과 곡선상의 다양한 기준점에서 민감도, 특이도, 예측도, 우도비(likelihood ratio)를 계산하였다(21). 개별혈청 유병률(individual prevalence)과 합병혈청 유병률(pooled prevalence)의 차이는 카이제곱 검정으로 평가하였다. 통계분석은 SAS (Statistical Analysis System, SAS, Cary, NC)를 이용하였고 ROC 곡선은 MedCalc 프로그램 (MedCalc, Belgium)을 사용하였다.

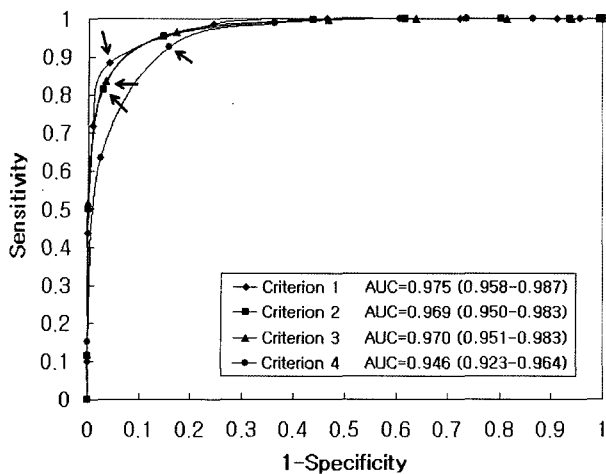
**결 과**

**개별 혈청 역가와 합병 혈청 역가 간의 관계**

개별혈청의 평균역가와 합병혈청의 역가에 대한 회귀선에서 개별혈청의 평균역가 (mean)는 합병혈청의 역가 (pool)를 약 87% 설명하였다 (r<sup>2</sup>=0.872, SE=0.0154, p<0.0001, pool = 1.2498 + 0.8952 × mean) (Fig 1).



**Fig 1.** Relationship between pooled titers (pool) and mean individual titers (mean). (coefficient of determination = 0.872, SE = 0.0154, p<0.0001).



**Fig 2.** Receiver operating characteristic curves for 4 criteria. Arrows represent optimal cut-off points at each criterion.

**진단검사의 특성**

본 연구에서 가정한 네 가지 양성 판정기준에 따른 ROC 곡선에서 기준 1의 경우 AUC는 0.975 (95% CI, 0.958-0.987; SE=0.006)로 가장 높았고 기준 4는 0.946 (95% CI, 0.923-0.964; SE=0.009)으로 가장 낮았다. 한편 기준 2와 기준 3에서는 각각 0.969 (95% CI, 0.950-0.983; SE=0.007)와 0.946 (95% CI; 0.951-0.983, SE; 0.006)으로 분석되었다 (Fig 2). 각 기준에서 민감도는 0.836-0.954, 특이도는 0.843-0.967 범위를 보였으며 기준 1과 2는 합병혈청 역가 8 이상, 기준 3과 4는 합병혈청 역가 9 이상의 기준이 최적

**Table 2.** Comparison of prevalences between individual and pooled sample by four criteria

Criteria	Individual prevalence (%)	Pooled prevalence (%) at pooled titer of:			
		7	8	9	10
1	75.4	80.4	67.6*	54.4*	33.0*
2	65.6	80.4*	67.6	54.4*	33.0*
3	63.6	80.4*	67.6	54.4*	33.0*
4	50.2	80.4*	67.6*	54.4	33.0*

\*P<0.001.

기준점으로 분석되었다 (Table 1).

**개별혈청 유병률과 합병혈청 유병률의 비교**

개별혈청과 최적 기준점에서 합병혈청의 유병률을 비교할 때 기준 1 (75.4%와 67.6%)과 3 (63.6%와 54.4%)에서는 통계적으로 유의한 차이를 보였지만 기준 2와 4에서는 두 유병률 간 차이는 없었다 (Table 2).

**고 찰**

질병의 유입위험을 평가하거나 유병률을 조사하는 연구에서는 개체의 상태보다는 계군의 상태에 관심을 갖는다(3). 만일 합병혈청에 대한 검사결과가 개별혈청에 대한 검사결과에 근거하여 얻은 추정치와 유사한 결과를 제공한다면 전자의 방법이 비용효율적인 면에서 선호된다(1,3,11,13,19). 합병혈청은 사람의 매독(6), 후천성면역결핍증(13), 선모충증

**Table 1.** Diagnostic performance of pooled test by four criteria

Criteria	Pooled titer	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV	LR+	LR-
Criterion 1	7	0.987	0.756	0.925	0.949	4.05	0.02
	8	0.883	0.959	0.985	0.728	21.72	0.12
	9	0.719	0.992	0.996	0.535	88.42	0.28
	10	0.438	1.000	1.000	0.367	NA	0.56
Criterion 2	7	0.997	0.564	0.813	0.990	2.29	0.01
	8	0.954	0.855	0.926	0.907	6.57	0.05
	9	0.814	0.971	0.982	0.732	28.00	0.19
	10	0.438	1.000	1.000	0.367	NA	0.50
Criterion 3	7	0.997	0.533	0.789	0.990	2.13	0.01
	8	0.965	0.830	0.908	0.932	5.67	0.04
	9	0.836	0.967	0.978	0.772	25.37	0.17
	10	0.519	1.000	1.000	0.543	NA	0.48
Criterion 4	7	1.000	0.394	0.624	1.000	1.65	0.00
	8	0.988	0.639	0.734	0.981	2.73	0.02
	9	0.928	0.843	0.857	0.921	5.93	0.09
	10	0.633	0.976	0.964	0.725	26.29	0.38

PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; LR+, positive likelihood ratio; LR-, negative likelihood ratio; NA, not available.

(trichinellosis), 살모넬라 감염증 등(4) 다양한 질병에 적용되고 있으며 위험이 중등도 이하(low-moderate)이거나 질병의 유병률이 10% 이하일 때 합병혈청의 효과(비용-효율)는 더욱 높다고 보고되었다(1,4,16).

본 연구에서 합병혈청 역가에 대한 개별혈청 평균역가의 설명력은 87%로 높게 나타났다 (Fig 1). 특히 개별역가가 높을 때 두 변수의 관련성이 높는데 이는 국내 IB의 유병률이 높다는 점에 비추어 볼 때 활용 가능성이 매우 높음을 시사한다. 이는 감염 농도와 경로에 따라 약간의 차이가 있지만 IB의 잠복기가 18-36시간으로 매우 짧고 전파가 급격히 빠르기 때문에(2) 특히 IB가 상재되어 있는 계군에서는 상당수 개체들이 동시에 감염되어 있을 가능성이 높기 때문이다. 이러한 특성은 ROC 곡선을 이용한 진단의 정확도에서도 유사한 결과를 보였다. AUC 해석과 관련하여 Swets (18)의 기준(<0.5 이하 진단효용 없음; 0.5-0.7 낮음; 0.7-0.9 중등도; >0.9 매우 높음)에 의하면 본 연구에서 개별역가에 대한 합병역가의 AUC는 Fig 2에서 보듯이 0.946-0.975 범위로 매우 높은 정확도를 보였다.

합병혈청 역가의 양성판정 기준을 설정하는 것은 유병률 추정에서 매우 중요하다. 양성과 음성으로 구분하는 진단의 기준점을 너무 높게 설정하면 실제로 질병이 있음에도 질병이 없는 군으로 분류되어 가음성률이 증가하므로 음성예측도는 낮아진다. 반대로 진단의 기준점을 낮게 설정하면 실제로 질병이 있는 개체는 모두 포함되어 민감도는 증가하는 반면 가양성률이 증가하여 양성예측도는 낮아진다. 기준점 설정은 검사할 집단의 유병률과 비용 이외에도 연구 상황에 따른 민감도와 특이도의 교환조건을 충분히 고려하여 판정기준을 결정해야 한다(17,22). 이러한 측면에서 본 연구 결과의 활용성을 높이기 위해 상황에 맞는 최적 기준치를 사용할 수 있도록 합병혈청 기준에서 진단의 정확도를 함께 제시하였다 (Table 1). 최적 기준점에서 민감도는 0.836-0.954, 특이도는 0.843-0.967 범위를 보여 비교적 높은 정확도를 보였다. 최적 기준점에서 개별혈청 유병률과 합병혈청 유병률은 기준 1에서 7.8%, 기준 2에서 2%, 기준 3에서 9.2%, 기준 4에서 4.2%의 차이를 보여 양성판정 기준에 따라 유병률의 차이가 있음을 시사한다. IB 감염여부를 확진할 수 있는 검사법을 사용하지 않았고 전문가의 자문을 통하여 임의적인 판정기준을 적용하였기 때문에 이러한 차이가 임상적으로 의미가 있는지는 이 시점에서는 정확히 알 수 없다.

양성판정 기준은 합병혈청의 효용성과 직접적인 관련이 있다. 즉 유병률이 높을 때 양성판정 기준을 높이지 않으면 가양성률(false positive)이 증가하여 양성예측도가 저하되는 문제가 발생한다. 예를 들어 본 연구에서 IB 검사의 민감도와 특이도가 95%일 때 유병률이 10%에서 20%로 증가한다고 가정하면 양성예측도는 32.1%에서 17.4%로 낮아져 검사결과 양성일 때 실제로 감염되어 있을 확률이 낮아짐을 의미한다. 따라서 본 연구에서 사용한 기준 1과 3에 비하여 보다 엄격한 기준인 3이나 4가 국내의 현실을 대표할 수 있는지는 추후 연구를 통하여 판단해야 할 것이며 국내 IB 유병

률을 고려한 양성판정 기준이 조속히 마련되어야 할 것으로 사료된다. 또한 향후 연구에서는 개별시료와 합병시료에 소요되는 비용 감소분을 비교평가하기 위하여 합병시료의 수, 합병 시료 당 개별시료의 수(pooling size), 농장 방문 및 채혈 비용, 시료 처리 및 합병과정 비용, 실험실 고정 비용 등을 고려한 비용분석과 IB에 대한 HI 검사와 관련하여 합병시료의 수와 pooling size의 적정수준을 결정하는 연구가 필요할 것으로 판단된다.

합병혈청에 대한 검사의 원리는 유병률이 낮을 때 pool 내의 모든 혈청이 검사음성일 확률이 높고, 양성 pool 이라고 하더라도 유병률이 낮은 관계로 1개 이상의 양성시료가 존재할 확률은 낮다고 가정하는 것이다(10). 이러한 가정이 부합되는 경우 검사 개수를 줄이면서 개별시료에서 얻는 추정치와 동일한 결과를 합병시료에서도 얻을 수 있게 된다. 합병시료를 이용한 대부분의 연구에서는 편의상 검사의 민감도와 특이도에 영향을 미치지 않는다고 가정하고 있다(11, 16). 그러나 IB에 대한 HI 검사는 특이도가 낮기 때문에 합병시료에서 양성혈청이 다수의 음성혈청에 의해 매우 희석되어 검출수준 이하가 될 수 있다. 따라서 유병률 추정치가 과소평가되는 문제가 발생할 수 있고(20) 특히 pooling size가 클 때 이러한 문제는 더욱 분명히 나타난다. 이러한 희석효과는 한 개의 pool 내에 존재하는 양성시료의 총 수에 대한 정보를 제공하므로 최종 추정치에 영향을 미칠 수 있기 때문에 적정 pooling size를 조절하는 것이 중요하며 이외 더불어 연구계획 단계에서 추정치의 정확도에 관심을 둘 것인지 비용을 고려할 것인지에 대하여 분명한 선택이 요구된다.

## 결 론

닭의 호흡기형 IB 진단에 사용되는 HI 검사에서 합병혈청의 이용 가능성을 평가하기 위하여 강원, 경기, 충북, 충남 지역 소재 500개 산란계군에서 채혈한 총 5,000수의 혈청을 분석하였다. 개별혈청 검사에서 양성판정 기준은 역가 9 이상인 시료가 적어도 하나 이상 검출되는 경우 (기준 1), 역가 9 이상인 시료가 적어도 둘 이상 검출되는 경우 (기준 2), 역가가 10 이상인 시료가 적어도 하나 이상 검출되는 경우 (기준 3), 역가 11 이상인 시료가 적어도 하나 이상 검출되는 경우 (기준 4) 등 네 가지로 가정하였다. 개별혈청의 평균역가 (mean)는 합병혈청 역가 (pool)를 87% 설명하였고 (pool=1.2498+0.8952×mean, p<0.0001) 합병혈청의 최적 기준점을 ROC 곡선으로 평가할 때 기준 1과 2에서는 역가 8 이상, 기준 3과 4에서는 역가 9 이상으로 분석되었다. 이러한 최적 기준점에서 민감도와 특이도는 각각 0.836-0.954와 0.843-0.967 범위로 개별혈청과 합병혈청의 유병률은 기준 2에서 최소 2%, 기준 3에서 최대 9.2%의 차이를 보였다. 이상의 결과에 근거할 때 개별혈청 역가는 합병혈청 역가를 비교적 정확히 반영하며 대규모 모집단을 대상으로 HI 검사를 이용하여 IB 혈청 유병률을 조사하는 연구에서 합병

혈청을 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

### 감사의 글

This study was supported by a grant (No. 0904001-1-1) from the High-Technology Development Project for Agriculture and Forestry, Ministry of Agriculture and Forestry, Republic of Korea.

### 참고 문헌

1. Cahoon-Young B, Chandler A, Livermore T, Gaudino J, Benjamin R. Sensitivity and specificity of pooled versus individual sera in a human immunodeficiency virus antibody prevalence study. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1893-1895.
2. Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, Reid WM, Yoder HW. *Diseases of poultry*. 9th ed. pp. Iowa State University Press. 1991: 471-484.
3. Christensen J, Gardner IA. Herd-level interpretation of test results for epidemiologic studies of animal diseases. *Prev Vet Med* 2000; 45: 83-106.
4. Cowling DW, Gardner IA, Johnson WO. Comparison of methods for estimation of individual-level prevalence based on pooled samples. *Prev Vet Med* 1999; 39: 211-225.
5. De Wit JJ. Detection of infectious bronchitis virus. *Avian Pathol* 2000; 29: 71-93.
6. Dorfman R. The detection of defective members of large populations. *Ann Math Stat* 1943; 14: 436-440.
7. Evers EG, Nauta MJ. Estimation of animal-level prevalence from pooled samples in animal production. *Prev Vet Med* 2001; 49: 175-190.
8. Frdderick AM, Marian CH, Michael JS. *Veterinary virology*. 3rd ed. Academic Press. 1999: 505-507.
9. Greiner M, Pfeiffer D, Smith RD. Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Prev Vet Med* 2000; 45: 23-41.
10. Hauck WW. Confidence intervals for seroprevalence determined from pooled sera. *Ann Epidemiol* 1991; 1: 277-281.
11. Jordan D. Simulating the sensitivity of pooled-sample herd tests for fecal Salmonella in cattle. *Prev Vet Med* 2005; 70: 59-73.
12. King DJ, Hopkins SR. Rapid serotyping of infectious bronchitis virus isolates with the hemagglutination-inhibition test. *Avian Dis* 1984; 28: 727-733.
13. Kline RL, Brothers TA, Brookmeyer R, Zeger S, Quinn TC. Evaluation of human immunodeficiency virus seroprevalence in population surveys using pooled sera. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1449-1452.
14. McMartin DA. Infectious bronchitis. In: McFerran JB, McNulty MS (eds). *Virus infections of birds*. Amsterdam: Elsevier. 1993: 249-275.
15. OIE (World organization for animal health). *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)*. 5th ed. Paris: OIE. 2004: 878-888.
16. Sacks JM, Bolin SR, Crowder SV. Prevalence estimation from pooled samples. *Am J Vet Res* 1989; 50: 205-2066.
17. Smith RD. *Veterinary clinical epidemiology: a problem-oriented approach*. NY: Butterworth-Heinemann. 1991: 29-43.
18. Swets JA. Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science* 1988; 240: 1285-1293.
19. Wells SJ, Godden SM, Lindeman CJ, Collins JE. Evaluation of bacteriologic culture of individual and pooled fecal samples for detection of Mycobacterium paratuberculosis in dairy cattle herds. *J Am Vet Med Assoc* 2003; 223: 1022-1025.
20. Zenios SA, Wein LM. Pooled testing for HIV prevalence estimation: exploiting the dilution effect. *Stat Med* 1998; 17: 1447-1467.
21. 박선일, 구희승, 황철용, 윤화영. 진단검사에서의 ROC 곡선의 응용. *한국임상수의학회지* 2002; 19: 312-315.
22. 박선일, 한홍율. 수의 임상 역학 및 통계. 1999: 서울: 한길아카데미, 118-128.
23. 장정호, 김선중. 닭 전염성 기관지염에 관한 연구: II. 간접 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)에 의한 항체가 측정. *대한수의학회지* 1989; 29: 503-515.