

## 소 브루셀라병 혈청 항체가 응집반응 비교 시험

김철호\*, 방상영, 전재형, 박종식 이민권, 신정섭

경상남도 축산 진흥연구소 북부지소  
(접수 2008. 05. 27. 게재승인 2008. 09. 22)

### A comparison of agglutination tests and enzyme-linked immunosorbent assay for the bovine brucellosis

Cheol-Ho Kim\*, Sang-Young Bang, Jae-Hyung Jeon, Jong-Sik Bhak,  
Min-Kwon Lee, Jung-Sub Shin

*North branch of Gyeongsngnamdo Livestock Promotion Research Institute,  
Hapcheon, 678-801, Korea*

(Received May 27, 2008, accepted in revised from September 22, 2008)

#### Abstract

A total of 710 bovine serum samples which are composed 532 bovine serum samples showed negative reaction and 178 bovine serum samples showed positive reaction with tube agglutination test (TAT) from North area of Gyeong-nam, Korea were tested using all the 3 assays which are Rose-Bengal test(RBT), tube agglutination test (TAT) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA, two types) and analyzed for evaluation of specificity, sensitivity, reproducibility and predictive value. In the comparison of serum antibody titer agglutination test, RBT showed almost agreement with TAT. In the comparison of TAT and two types of ELISA method, they showed difference in specificity and sensitivity about 5%. But there is no significant difference in detecting sensitivity between two types of ELISA method and TAT. In serologic tests for bovine brucellosis, the new assay ELISA would be a good candidate for serologic survey for bovine brucellosis in Korea because it is efficient in detecting many test samples quickly. But the serum agglutination tests (RBT, TAT) are more economical and easy assay for detection. In the test of comparison of antibody

---

\*Corresponding author.

Phone : +82-55-931-3245, Fax +82-55-930-3865

E-mail : kimch418@hanmail.net

titer between first day of finding and 10 days after finding by TAT, there was no change in 55% (76/139) of positive cattle.

Key words : Bovine brucellosis, Serologic test, Serum agglutination tests, ELISA, Serum antibody titer.

## 서 론

브루셀라병은 소, 돼지, 양, 말, 개 등 가축 외 여러 동물에도 경제적 손실을 초래하는 제2종 법정 가축전염병인 동시에 암소에서는 유산을 수소에서는 고환염 및 전립선염 등 번식장애를 일으키는 전염성 질병으로 사람에도 감염되어 불현성 감염 또는 파상열, 관절염, 오한 등을 일으키는 인수공통전염병으로 공중위생상 매우 중요하기 때문에 많은 연구가 이루어지고 있다<sup>1-11)</sup>.

소 브루셀라병의 국내 발생 보고는 1955년 미국에서 도입한 젖소 124두에서 혈청 검사 결과 30두가 첫 양성우 판정으로 발생되었고, 1년 후 1956년에 병원균이 처음으로 분리되었으며, 그 후 주로 착유 젖소 농가를 대상으로 브루셀라병을 근절하기 위해 가축전염병 예방법으로 혈청 진단에 의한 양성축 발생시 살처분 정책을 실시하고 있으며, 최근 개정 보완된 “브루셀라병방역실시요령”에 의해 1세 이상의 모든 한·육우의 사육 소(거세우 제외)를 대상으로 확대 검사를 실시한 결과 전국적으로 감염률이 증가하고 있는 실정이다<sup>12-18)</sup>.

소 브루셀라병의 진단은 유산 태아 및 태반과 양수 등의 시료와 그리고 살처분시 입과조직 등 조직 시료로부터의 직접적인 원인균 균분리 방법과, 다른 방법으로 *Brucella* 항원에 특이 세포 매개성 또는 혈청학적인 반응으로 검사할 수 있다<sup>11)</sup>.

소에서 브루셀라병을 혈청학적으로 검진하기 위해 우리나라 및 국제수역사무국(OIE)에서 공인된 혈청학적 screening 진단방법에는 Buffered *Brucella* antigen tests (Rose-Bengal test, RBT), Buffered plate agglutination test (plate test, BPAT) 등에 의한 1차 screening

test와 확진검사 방법인 Tube agglutination test (TAT), Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA), Fluorescence polarisation assay (FPA), Complement fixation test (CFT) 등이 사용되고 있으며, 이들 진단법에서 양성으로 판정된 혈청의 최종 판정을 위해 적합한 진단방법으로는 기존의 TAT와 CFT나 ELISA 등이 적합한 진단법으로 보고되고 있다<sup>11,14,19-23)</sup>.

즉 브루셀라병 진단에 사용되고 있는 혈청학적 검사 방법들 상호간 상관관계는 상당한 차이가 있는 것으로 보고되고 있으며, 이러한 진단 방법의 선택에 따라서 양성 검출율이 차이가 있다고 보고하고 있어<sup>24,25,26)</sup> 진단 방법의 선택은 대단히 중요하다<sup>26)</sup>. 이와 같이 여러 혈청학적 진단법들이 개발되어 사용되고 있으나 기존의 진단방법들은 아직 단일 진단법으로 적용하기에는 완전한 진단방법으로 개발되어 있지 않아 국제적으로 2종 이상의 진단법을 병행하고 있다<sup>27,28)</sup>.

기존의 Serum agglutination test (SAT)는 비특이적인 반응이 있을 수 있으며 만성형인 경우에는 검출하지 못하는 단점이 있다고 보고되고<sup>29)</sup> 있으며 또한 국제적 표준을 위해서는 부적합하다고 간주되고 있으므로<sup>11)</sup>, SAT 보다 진단학적으로 더 특이적이고 최근에 개발된 ELISA와 FPA는 기술적으로 진단함에 있어 보다 간편하고 사용하기에 용이하고 그 결과 또한 명확하여 진단법이 다소 복잡한 CFT의 결과와 비슷하기 때문에 사용이 더욱 더 추천되고 있는 실정이다<sup>11,30,31)</sup>.

브루셀라병방역실시요령<sup>14)</sup> 의한 브루셀라병 국가방역 표준 검사법으로는 브루셀라병의 근절을 위해 1차적으로 RBT에 의한 진단법으로 비교적 간단하게 수행할 수 있으며, 검출 민감도 또한 높기 때문에 screening test

진단법으로 사용되고 있다. 그러나 이 진단법은 비특이적 반응이 나타날 수 있어 양성으로 판정된 시료는 2차 확진 진단법인 TAT에 의해 재검을 받아야 하며, 혈청 희석배수에 의한 응집반응 상태는 숙련된 기술자에 의해 관찰되어야 하며 정확한 비교와 판단이 요구되고 있다<sup>11,29)</sup>.

이에 본 연구는 최근 소 브루셀라병 검진 강화에 의한 검사 시료 증가와 이에 따른 양성 우 증가 추세에 대처하기 위하여 신속 정확하고 효율적인 브루셀라병 혈청검사 진단법 제시와 OIE 공인 소 브루셀라병 표준 혈청 진단법의 국내 적용과 진단 효능 시험을 위해 RBT와 TAT에 의해 판정된 음성 혈청과 양성 혈청에 대해 혈청 응집 상태 관찰과 ELISA와 비교 시험으로 소 브루셀라병 방역 대책의 효과적인 진단법 확립을 위하여 이 실험을 실시하게 되었다.

## 재료 및 방법

### 공시재료 (가검혈청)

혈청 시료는 2007년도 경남 북부지역 한·육우 1세 이상 브루셀라병 검사 대상 총 710두 중 혈청 응집반응 (RBT, TAT) 판정 기준에 의한 미응집 상태인 음성 혈청 532두와 혈청 항체가 25배 이상에서 응집반응을 나타내는 양성 혈청 178두를 대상으로 비교 시험하였다.

또한 브루셀라병 항체에 대한 검사의 특이성과 재현성을 알아보고, 일정기간(10일) 경과 후 개체별 역가 변화 추이를 파악하기 위하여 TAT 25배 이상 400배까지 양성반응을 보인 동일개체를 (139두) 대상으로 첫 검사 10일 후 재 채혈하여 항체가를 비교하였다.

### 진단 항원

RBT는 대성미생물(*Brucella abortus* 1119-3,

8%), TAT 진단항원 (*Brucella abortus* 1119-3)은 수의과학 검역원에서 조제한 진단액으로 실험에 사용하였으며, ELISA용 항원은 2종을 비교하였으며 Svanova사의 *Brucella*-Ab c-ELISA 진단 kits (Svanova Biotech AB Uppsala, Sweden)와 IDEXX사 CHKIT, *Brucell*-*lose*-Serum으로 하였다.

### 진단 방법

RBT<sup>32)</sup>, TAT<sup>33)</sup>는 국가공인 진단법<sup>14,34)</sup>에 따라 실험하여, TAT 기준 항체역가 희석배수 1: 25, 50, 100, 200, 400을 측정 한 후 그 결과를 판정하였으며, ELISA는 제조사의 방법에 따라 실험을 수행한 후 제조사에서 정한 기준에 따라 그 결과를 판정하였다.

즉, kit에 동봉된 음성 표준 혈청을 포함한 가검 혈청에 대한 흡광도 수치를 동봉된 양성 표준 혈청에 대한 흡광도 수치로 나눈 후 100을 곱한 다음 나온 수치(percent positivity; PP)가 60보다 크면 양성으로, 30~60이면 의양성, 30이하이면 음성으로 판정하였다.

## 결 과

### 브루셀라병 혈청 응집반응시험 (RBT, TAT) 결과 비교

현재 국내 브루셀라병 표준 방역으로 야외 진단에 사용되는 RBT과 TAT의 검사 방법에 따라 총 710두를 비교 검사한 결과 Fig 1과 같이 1차 RBT로 농가별 개체 검사 시 브루셀라병 혈청 항체유무에 따라 개체 시료별로 무응집과 항체역가에 따라 다양한 형태의 응집상태로 양성이 관찰되어 RBT에 의해서도 항체역가에 따라 응집정도가 민감하게 반응한다는 것을 알 수 있었다.

Table 1과 Fig 2와 같이 총 710두 RBT 검사에 의한 결과 528두에서 완전 무응집 음성반응을 나타냈으며, 182두에서는 육안적으로 식별이 가능한 항원·항체 반응에 의한 응집소 형성으

로 양성 응집반응이 나타나 항체가에 대한 응집반응 정도에 따라 전혀 응집되지 않고 분홍색으로 무응집 반응 시 항체 음성(-)으로 판정되었으며, 양성 항체가 응집반응 정도에 따라 ±, +, ++, +++ 로 분류가 가능 하였고, 응집반응에 의한 응집괴 형성은 주로 항체 저역가시 응집반응 주변부에 띠(ring)를 형성하였다.

즉 RBT와 TAT 응집반응 비교 시험에서 혈청 희석배수 1: 25에서 항체가 응집 양성일 때 RBT에서의 응집반응 상태는 응집괴가 아주 약하고 흔적만 약간 보이거나 주변 가장자리에 미세한 띠를 형성하였고(±), TAT 희

석배수 1: 50에서 응집 양성일 때의 RBT 응집반응은 과립성 응집괴가 미세하게 출현하며 주로 가장자리 주변부에 현저하게 띠를 형성하였고(+), TAT 1: 100에서 양성 반응 혈청의 RBT 응집 상태는 응집괴가 현저한 과립구 형태로 전면에 나타나며, 특히 가장자리에 뚜렷한 띠를 형성하였고(++), TAT 희석배수 1: 200에서 양성 혈청에 의한 RBT 응집 상태는 거칠은 응집으로 응집괴가 크고 뚜렷하며 서로 결합하여 덩어리 현상을 보이며 띠는 잘 구분되지 않았다(+++).

이러한 RBT 분류 결과에 따라 Fig 3, 4, 5, 6과 같이 2차 TAT에 의한 항체 역가별 응집반응과 RBT와의 응집반응 상태를 비교 확인 시험을 위하여 RBT 음성 판정 혈청을 포함한 총 710두를 대상으로 비동화에 의한 혈청 항체가 희석배수(1: 25, 50, 100, 200, 400)에 의한 혈청 응집반응 상태를 비교 시험 결과 RBT으로 무응집 음성 판정된 528두와 TAT 확인 비교 시험에서 TAT에서도 동일한(528두) 음성반응이 나타났으며, RBT 미약 응집반응(±) 이상 양성 응집 반응 182두 중 178두(98%)가 TAT 25배 이상에서 양성 응집반응을 나타내었으며, 이중RBT 미약 응집상태(±) 판정 4두(2.1%)에서는 TAT 음성으로 나타났고, RBT 응집상태 + 이상을 나타낸 147두에서 TAT 50배 이상 응집반응 비교 시험에서 146두에서 양성 응집반응이 나타나 항체가에 의한 혈청 응집상태가 서로 99.3%의 일치하여 항체가가 높을수록 거의 동일한 결과 치를 나타내었다.

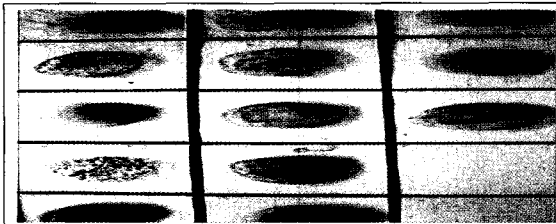


Fig 1. Variable agglutinability in RBT according to the antibody titers

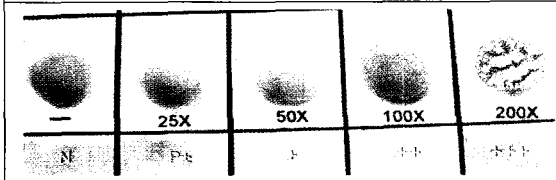


Fig 2. Comparison of agglutinability in RBT with antibody titer in TAT

\* Up = RBT, down = RBT  
Agglutinability (negative ±~+++)

Table 1. Comparison of RBT and TAT

RBT		TAT		
		Positive (≥1:100)	Suspected (1 : 50)	Negative (≤1 : 25)
Negative	528	0	0	528(100%)
±	35	0	0	35(100%)
+	16	3(19%)	12(75%)	1(6%)
++	32	32(100%)	0	0
+++	99	99(100%)	0	0
Total	710	134	12	564

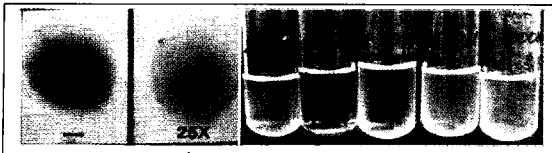


Fig 3. Comparison of Rose-Bengal test and tube agglutination test (1:25)



Fig 4. Comparison of Rose-Bengal test and tube agglutination test (1:50)

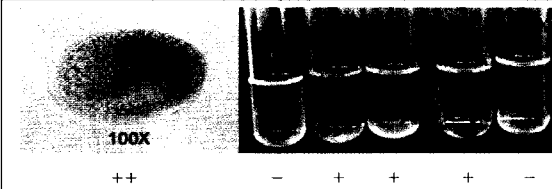


Fig 5. Comparison of Rose-Bengal test and Tube agglutination test(1:100)

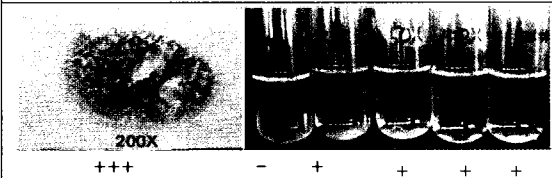


Fig 6. Comparison of Rose-Bengal test and Tube agglutination test(1:200)

RBT, TAT의 항체역가에 따른 ELISA 비교 시험 결과

혈청 응집반응 진단법(BAT, TAT)과 2종의 ELISA 진단법 비교 시험에서 Table 2.와 같이 BAT, TAT 기준 응집반응 음성인 343두와 Svanova ELISA kit와의 비교시험에서 9두(2.6%)에서 양성을 나타내었고, 11두(3.2%)에서 의양성으로 판정되어 5.8% 정도에서 Svanova ELISA 진단법이 TAT 음성 판정에서 더 민감하게 반응하였으며,

또한 TAT 혈청 항체가 25배 이상의 양성 응집반응 62두와 Svanova ELISA 비교 시험에서 40두(64.5%)가 ELISA 양성으로 나타났고, 의양성으로는 3두(4.8%)가 판정되었고, TAT 의양성 기준 항체가 50배 이상의 양성 45두에서는 Svanova ELISA 진단법이 39두(86.6%)가 양성이었으며, 의양성은 3두(6.6%)로 나타났으며, 의양성 포함 93.3%에서 TAT 양성 반응과 일치하였고 TAT 100배 이상 42두 양성과의 비교에서 Svanova ELISA에서는 38두(90.4%)가 양성으로 나타났다.

의양성 3두(7.1%)를 포함한 양성으로는 41두(97.6%)가 판정되어 Svanova ELISA 진단법이 TAT 양성보다 음성 판정에서 더 민감하게 반응하였다.

Table 2. Comparison of TAT and ELISA method (Svanova)

TAT		ELISA (Svanova).			
		Positive	Suspected	Total	Negative
Negative ( 0 )	343	9	11	20	323 (94%)
Negative (1 : 25)	17	1	0	1	16
Suspected (1 : 50)	3	1	0	1	2
Positive	1 : 100	10	7	3	10
	1 : 200	11	10	0	10
	1 : 400	21	21	0	21
Total	42	38 (90%)	3	41 (98%)	1
Total	405	49	14	63	342

Table 3과 같이 BAT, TAT 기준 혈청 무응집 반응을 나타낸 음성 189두와 CHKIT ELISA test와의 비교 시험에서 10두(5.3%)에서 양성으로 판정되어 혈청 응집반응 음성 판정 기준 ELISA 와의 비교에서 95.7%로 일치율을 나타내었다.

TAT 판정 기준 25배 이하의 음성 판정 203두와 CHKIT ELISA 비교 시험 시 CHKIT ELISA에서는 음성 180두가 음성 판정되어 일치율이 88.6%로 나타났고, TAT 기준 혈청 항체가 25배에서 응집반응 양성을 나타내어 음성 판정된 14두 중에서 CHKit ELISA에서는 13두(92.8%)가 양성으

로 판정되어 TAT 항체가 기준 낮은 항체가 농도에서 더 양성으로 검출되어 CHKIT ELISA 진단법이 25배 이하의 낮은 항체가에서 더 민감하게 양성으로 판정되었다.

또한 TAT 혈청 항체가 50배에서 응집반응을 보인 의양성 판정 10두 중 9두(90%)에서 CHKIT ELISA에서 양성반응을 보였으며, TAT 혈청 항체가 100배 이상의 양성 92두와 CHKIT ELISA 비교 시험에서 90두(97.8%)가 ELISA 양성으로 나타났고, TAT 혈청 항체가 50배(의양성) 이상의 102두와 CHKIT ELISA와의 양성 비교에서 97.0%의 일치율을 나타내었다.

Table 3. Comparison of TAT and ELISA method(CHKIT)

TAT		ELISA(CHKIT)				
		Positive	Suspected	Subtotal	Negative	
Negative( 0 )	189	10	0	10 (5%)	179 (95%)	
Negative(1:25)	14	13	0	13	1	
Suspected(1:50)	10	9	0	9	1	
Positive	1:100	18	17	0	17	1
	1:200	37	36	0	36	1
	1:400	37	37	0	37	0
	Total	92	90 (98%)	0	90 (98%)	2
Total	305	122	0	122	183	

Table 2와 3에서와 같이 2종의 ELISA kit 간의 검출 감도의 차이는 유의성이 없었다.

Table 4와 같이 2종의 ELISA 분석 결과를 종합하여 TAT 혈청 항체와 비교한 결과 TAT 기준 응집반응 음성인 532두와 ELISA kit와의 비교 시험에서 502두가 음성 판정 되어 94.4%의 일치율을 나타내었고, 의양성 11두 포함 양성 판정은 30두(5.6%)로 나타나 역시 ELISA 진단법이 TAT 음성 판정 시료에서 보다 더 민감하게 양성 반응을 나타내었다.

또한 TAT 혈청 항체가 25배 이상의 400배 까지 양성 응집반응 178두와 ELISA 비교 시험에서 155두(87.1%)가 의양성 3두 포함 ELISA 양성으로 나타났고, TAT 혈청 항체

가 응집반응 기준 25배에서 양성 반응을 보여 음성 판정된 31두에서는 ELISA 진단법이 14두 (45.2%)가 양성으로 판정되었으며, TAT 기준 항체가 50배 양성 반응을 나타낸 의양성 판정 13두에서는 ELISA 양성 판정은 10두(76.9%)로 나타났고, TAT 기준 항체가 희석배수 100배 이상 400배까지 양성 판정된 134두와 ELISA 비교에서 128두(95.5%)가 양성으로 나타났으며, ELISA 의 양성 3두를 포함한 양성으로는 131두(97.7%)가 판정되었으며 이중 TAT 기준 항체가 400배의 고역가 양성 판정 100두에서는 ELISA와 서로 비교 시 100%의 일치율을 나타내었다.

또한 혈청 응집반응 시험 대상 총 710두 중 TAT와 ELISA에 의한 각각 양성 및 음성 판정 결과 비교에서 혈청 응집반응에 의한 무반응 음성 판정은 532두였으며, ELISA 분석 결과 음성 판정은 525두로 7두가 감소

하여 98.7%의 일치율을 나타냈으며, TAT 기준 항체가 음성 및 25배에서 양성 응집반응을 나타내어 음성 판정된 563두와 ELISA 음성 판정 525두와 비교에서는 38두(6.7%)가 감소한 결과를 나타내었다.

Table 4. Comparison of TAT and ELISA(Svanova and CHKIT) methods

TAT	ELISA (Total)			
		Positive	Suspected	Negative
Negative ( 0 )	532	19	11	502(95%)
Negative (1 : 25)	31	14	0	17
Suspected (1 : 50)	13	10	0	3
Positive	1 : 100	28	3	1
	1 : 200	48	0	2
	1 : 400	58	0	0
	Total	134	128(96%)	3
Total	710	171	14	525

한편 시험대상 710두 중 TAT 기준 항체가 25배 이상 양성 응집반응을 나타낸 178두에 비하여 ELISA에는 의양성 14두를 포함한 양성 185두로 7두(3.9%)가 증가 하였으며, TAT 기준 항체가 50배 이상 의양성 13두 포함 양성 판정된 총 147두에 비하여는 ELISA에서 역시 38두(25.9%)가 증가한 것으로 나타났다.

TAT 기준 항체가 100배 이상 양성 판정된 134두와 ELISA 의양성을 제외한 양성

판정 171두와 비교 시 37두(27.6%)가 증가되어 TAT 보다 ELISA에서 특이성과 민감도가 높아 양성율이 높게 나타났다.

Table 5와 같이 TAT 항체가 응집반응 25배 이하 음성기준 563두를 대상으로 ELISA와 비교한 분석 결과 ELISA에서는 양성이 33두(5.9%), 의양성이 11두(2%)로 총 44두(7.8%)에서 양성반응을 보였으며, 음성은 519두(92.2%)로 나타났다.

Table 5. Comparison of TAT and ELISA(Svanova and CHECKit) methods(negative to negative)

TAT	ELISA (Total)					
		Positive	Suspected	Subtotal	Negative	
Negative	0	532	19	11	30 (6%)	502 (94%)
	1 : 25	31	14	0	14( 45%)	17 (55%)
Total		563	33	11	44 (8%)	519 (92%)

Table 6과 같이 TAT와 같이 TAT 항체가 응집반응 50배 이상 의양성 포함 양성 147두를 대상으로 ELISA와 비교한 분석 결과 ELISA에서는 양성이 138두(94.6%) 의양성이 3두(2%)로 총 141두(95.9%)가 양성 반응 나타냈으며, 이중 TAT 50배 13두 양성에서는 ELISA가 10두 76.9%의 양성 일치율을 나타냈으며, 100배 이상 400배까지 양성

134두에서 비교 시험에서 ELISA 양성이 128두(95.5%)의 의양성 판정이 3두(2.2%)로 나타나 총 131두(97.8%)에서 양성반응을 나타내었고 TAT 항체가 기준 200배와 400배에서는 100% 일치율을 나타내었다.

TAT 혈청 양성 반응에 따른 항체가 변화 추이 비교

Table 7과 같이 TAT 항체가 25배 이상에서 양성 반응을 보인 양성우 139두를 대상으로 항체의 특이성과 재현성 검사를 위하여 양성 기간별(10일 간격 1회) 혈청 항체가의 변화 추이 비교 시험에서 항체가별 일정

수준 유지가 76두 55%이었으며, 증가 현상은 18두 13%, 감소는 44두 32%로 항체가 유지가 절반 이상이었으며, 특히 항체가 50배에서 감소율이 60%로 가장 높았고, 200배 이상에서는 16% 정도로 감소율이 낮게 나타났다.

Table 6. Comparison of TAT and ELISA(Svanova and CHECKit) methods(positive to positive)

TAT	ELISA(Total)		
	Positive	Suspected	Subtotal
Suspected (1 : 50)	13	10	10 (78%)
Positive	1 : 100	24	3
	1 : 200	46	0
	1 : 400	58	0
	Subtotal	128 (96%)	3
Total	147	138 (94%)	3

Table 7. Comparison of antibody titer between first day of finding and 10 days after finding

TAT (antibody titer)	Detected No. cow	No. cow (10 days after finding)			Rate of decreased
		Maintained	Increased	Decreased	
1 : 25	12	6	3	3	25%
1 : 50	25	7	3	15	60%
1 : 100	44	20	7	17	34%
1 : 200	18	10	5	3	16%
1 : 400	40	33	0	7	18%
Total	139	76	18	44	31%
%	100	55	13	32	

## 고 찰

소 브루셀라병의 진단은 유산 등의 임상 증상과 원인균 분리에 의한 병원체 확인 또는 혈청학적 검사 등에 의해 진단되며, 이들 진단 방법들은 서로 일치하거나 항상 가능한 것은 아니다.

그 이유로 임신한 소에서 혈청검사에 의한 항체 양성 반응에도 감염시기에 따라 유산이

나타나지 않는 경우가 있으며, 유산을 하여도 항체가 음성인 경우도 있으며, 또한 암송아지 등에서 성 성숙이 이루어지지 않는 시기에는 항체 진단법으로 검출되지 않는 경우가 많기 때문이다.

또한 소 브루셀라병의 진단 중 원인균 분리 및 동정법으로 5일 이상 많은 시간이 소요되고 과거에 감염된 경우 일정 수준의 면역 항체가 존재하고 있는 만성 감염의 경우에는 균 분리율이 낮거나 잘 분리 되지 않아



표준 진단법으로 적용하기에는 어렵기 때문에 국제적으로 혈청학적인 진단방법을 많이 사용하고 있다<sup>1,4,19, 21,35,36)</sup>.

브루셀라병의 혈청학적인 검사 방법으로는 국제수역사무국(OIE) 등<sup>19-21)</sup>에서 규정한 SAT가 국제적으로 일반적인 표준검사법으로 사용되고 있고, AST보다 더 진단상 특이적인 CFT도 역시 국제적으로 표준 검사법으로 사용하고 있으며, 또한 ELISAs와 FPA 진단법도 CFT보다 더 우수하고 사용하기가 간편한 진단법으로 인정되고 있다<sup>11,29,30)</sup>.

소 브루셀라병의 방역에 있어서 BBATs 즉 RBT와 BPAT, 그리고 ELISA tests나 FPA 등이 발병지역 또는 개체별 screening tests로 사용되고 있으며, 그 어떤 진단법도 단독으로는 개체별 또는 발병지역에서 브루셀라병을 정확하게 진단하기에는 적합하지 않으며 모든 진단법은 특히, 개체별 screening tests에 있어서 제약을 받고 있다는 사실이다<sup>11)</sup>.

현재 우리나라에서는 브루셀라병 표준방역 지침<sup>14,34)</sup>에 의한 브루셀라병을 검진하기 위하여 혈청학적 진단법으로 한·육우는 개체별로 채혈하여 1차적으로 RBT를 실시한 후, 양성우는 2차적으로 확인 검사를 위하여 TAT으로 최종 판정하고, 착유 젖소는 1차적으로 집유 농가에서 MRT를 통하여 양성 농가를 찾아내어 개체별 혈청검사를 한·육우와 같은 방법으로 추적검사를 표준진단법으로 실시하고 있으며 그 외 확인진단방법으로 ELISA 및 CFT와 원인균 분리 방법이 있다.

본 실험에서도 국내 소 브루셀라병을 방역의 효율적인 방역을 위해 최근 강화된 브루셀라병 국가방역대책에 의해 검사대상우 증가와 이에 따른 양성우 발생이 지속적으로 발생되므로 신속하면서도 정확하게 좀 더 효율적으로 검진하기 위한 방법으로 최근 국제수역사무국(OIE) 등에서 우수한 진단법으로 권장하고 있는 *B abortus* 1119-3 항원의 LPS를 이용한 ELISA 진단 kit<sup>11)</sup>을 이용하여 국내에서 브루셀라병 검진에 사용되고 있는

기존의 SAT와 비교하고, 또한 ELISA 진단 kit를 이용한 실험실 적용 시험과 진단 효능 알아보고 보다 더 효과적인 진단법 확립을 위하여 2007년도 경남 북부지역에서 소 브루셀라병 검진을 받기 위해 채혈 의뢰된 혈청 중 브루셀라병으로 판정된 양성우와 음성 판정우 총 710두의 혈청 시료를 대상으로 국내에서 소 브루셀라병 1차 screening tests로 주로 사용되고 있는 RBT와 확인검사법인 TAT와의 상호 응집반응 상태를 비교하고 그 결과에 따라 2종의 ELISA 진단법으로 분석하여 그 결과를 상호 비교하여 시험하였다.

시험 결과 RBT에 의한 무응집 반응으로 음성판정된 528두와 육안적으로 응집반응을 나타내어 양성판정된 182두를 대상으로 혈청 항체가에 대한 응집상태를 관찰한 결과에 의하면 항체가 유무 여부와 역가차이에 따라 응집 반응정도가 차이가 났으며, TAT 항체가와 RBT 응집반응 비교 시 TAT 항체가 25배에서는 RBT에서 미약하게 응집소가 나타났다.

TAT 항체가 50배 응집 양성에서는 RBT 반응에서 육안적으로 현저하게 식별이 가능한 수준까지 응집소가 형성되었으며 주로 주변부에 띠를 형성하고 있었으며, TAT 항체가 100배 양성 시에는 RBT 응집반응 상태는 응집소 과립이 전반적으로 뚜렷하게 나타났으며 특히 띠 주변에 밀집해 있으며, 항체가 200배 이상 양성에서는 응집소 과립이 서로 뭉쳐 덩어리 형태로 관찰되어 TAT 항체역가에 따라 응집반응 정도와 일치하였다.

이는 서로 혈청항체와 진단액 항원이 서로 결합하여 응집반응하는 같은 원리에 의한 진단법으로 RBT에 의한 1차 screening tests 시 응집정도에 따라 TAT 항체가 양성 배수를 예측할 수 있으므로 “브루셀라병방역실시요령에”의한 의양성 판정으로 신속한 방역 조치를 강구하는데 효과적이며, BAT와 TAT 검사법 간에는 동일한 검사 결과로 정확히 응집반응이 관찰되므로 현재 우리나라 야외 표준 혈청검사법으로 사용하기에 용이하고

적정한 진단법으로 여겨지며, 또한 혈청 응집 반응검사법(BAT, TAT)이 최근 연구보고<sup>11,37)</sup>에 의하면 국제적으로 표준을 위해서 불만족스러운 진단법으로 여겨지고는 있으나 소 브루셀라병의 근절을 위해 수십년간 성공적으로 사용되어져 왔고 또한 현재 다른 나라에서도 여전히 근절을 위한 주요 진단법으로 사용되고 있으므로 우리나라에서의 소 브루셀라병 발생지역의 개체 진단에 효율적인 진단법으로 활용할 수 있음을 확인할 수 있었다.

혈청 응집반응진단법(RBT, TAT)에 의한 항체역가에 판정결과에 따른 2종의 ELISA (Svanova, CHECKIT) 진단법 결과와 비교 시험에서 총 710두를 대상으로 혈청응집 무반응 음성판정 532두와 혈청 항체가 25배 이상 400배까지 양성반응을 나타낸 178두의 시료를 ELISA와 결과와 상관관계를 비교한 시험에서 TAT 기준 응집반응 음성인 532두와 ELISA kit와 비교시험에서 502두가 음성판정되어 94.4%의 일치율을 나타내었고, 의양성 11두 포함 양성판정시 30두 5.6%로 증가하여 나타나 역시 ELISA 진단법이 TAT 음성판정 시료에서 보다 더 특이적이고 민감하게 양성 반응을 나타낸 결과로 보이며, 이는 소 브루셀라병 감염 특성상 초기에는 IgM 항체가 형성되어 2주 후에는 최고치를 나타내며, 4~6주 이후부터는 IgG가 형성되어 초기 IgM을 능가하여 지속적으로 유지하게 되며<sup>38)</sup>, 또한 non-agglutinating antibody(IgG1 subclass)도 갖게 되어, 이러한 Non-agglutinating antibody는 면역기능(opsonizing activity)이 없으며, 따라서 감염우에서 *B abortus* 원인균 탐색 기능도 없어서 만성 보균우가 된다는 보고가 있다<sup>38)</sup>.

더욱이 이러한 항체는 agglutinating IgM이나 IgG2 항체를 경쟁적으로 차단하여 응집반응 방해현상을 일으켜 평판응집반응(PLT)으로는 잘 검출되지 않으나 ELISA kit 진단법으로는 검출이 가능하다는 보고<sup>38)</sup>와 연관이 있지 않나 여겨지며, 또한 TAT 혈청항체가 25배 이상의 400배까지 양성응집반응 178두와

ELISA 비교시험에서 의양성 3두를 포함 155두 87.1%에서 ELISA 양성으로 나타났고, TAT 혈청항체가 응집반응기준 25배에서 최종 음성 판정된 31두에 대하여는 ELISA 진단법이 14두 45.2%가 양성으로 추가판정되어 역시 TAT에서의 항체가가 낮은 수준에서 더 민감하게 반응하여 양성율이 높았으며, TAT 기준 항체가 100배 이상 400배까지 양성 판정된 134두와 ELISA 결과와 비교에서 ELISA 의양성 3두를 포함한 양성은 131두 97.7%로 나타났고, 이중 TAT 기준 항체가 400배의 고역가 양성 판정 100두에서는 ELISA와 서로 100%의 일치율을 나타내어 항체가 높을수록 TAT 양성률과 일치하는 경향을 보여 국제적으로 *B abortus* LPS를 이용한 ELISA 사용이 증가하고 민감도에 있어서는 혈청 응집반응 진단법(RBT, TAT)의 결과와 일치하거나 그 이상의 민감도가 있으며, 특이도에 있어서는 CFT의 결과와 일치하거나 좀 더 정확하다고 보고된 결과<sup>11,29,37,39)</sup>와 비교해 볼 때 본 실험에서의 결과와 일부 일치함을 확인할 수 있으나 TAT 25배 이하 음성 판정결과에서는 7.9%정도 차이가 인정되었다.

또한 혈청 응집반응 시험대상 총 710두 중 TAT와 ELISA에 의한 양성 및 음성판정결과 비교에서 혈청 응집반응에 의한 무반응 음성은 532두였으며, ELISA 분석결과 음성판정은 525두로 7두가 감소하여 98.7%의 일치율을 나타냈으며, TAT 기준 항체가 음성 및 25배에서 양성응집반응을 나타내어 최종 음성판정된 563두와 ELISA 음성 525두와 비교에서는 38두 6.7%가 감소한 결과로 93.3%의 일치율을 나타내어 상대적으로 ELISA에서 양성률이 7%정도 더 검출되어 역시 혈청 응집반응 진단법 보다 더 특이적이고 민감하게 반응한 결과로 여겨지며, 이는 TAT 결과 양성보다 음성 결과에서 더 민감하였다.

또한 TAT 기준 항체가 25배 이상 양성 응집반응을 나타낸 178두에 비하여 ELISA에는 의양성 14두를 포함한 양성은 185두로 7두 3.9%가 증가 하였고, TAT 기준 항체가 50배

이상 의양성은 13두를 포함 양성 판정된 총 147두에 비하여는 ELISA 보다 역시 38두 25.9% 가 증가한 결과를 나타내었다.

TAT 기준 항체가 100배 이상 양성 판정된 134두와 ELISA 양성 판정 결과 171두와 비교 시 37두 27.6%가 증가되었으므로 TAT 보다 ELISA에서 특이성과 민감도가 높아 양성율이 높게 나타난 결과로 여겨지며, TAT 항체가 응집반응 25배 이하 음성기준 563두를 대상으로 ELISA와 비교한 분석결과 ELISA에서는 양성이 33두 5.9% 의양성이 11두 2%로 총 44두 7.8%가 양성 반응을 나타내었으며, 음성은 519두 92.2%로 나타났다.

TAT 항체가 응집반응 50배 이상 의양성 판정을 포함한 양성 147두를 대상으로 ELISA와 비교한 분석 결과 ELISA에서는 양성이 138두 94.6%, 의양성이 3두 2%로 총 141두 95.9%가 양성반응을 나타냈으며, 이중 TAT 50배 13두에서는 10두 76.9%, 100배 이상 400배 까지 양성 134두에서 비교시험에서 ELISA 양성이 128두 95.5%이고 의양성판정이 3두 2.2%로 나타나 총 131두 97.8%에서 양성반응을 나타내었고 TAT 항체가 기준 200배와 400배에서는 100% 일치율을 나타내 역시 TAT 양성 판정군에서 보다 음성군에서 ELISA 양성 검출이 많았음을 알 수 있었다.

김<sup>40)</sup>은 브루셀라병의 진단에 있어 *Vibrio cholera*와 *Samonella pullorum*과 같이 혈청 항체가 1:100 이하에서 양성 반응이 일어날 수 있다고 하였으며, 혈청 응집반응으로 진단할 경우에는 1:100 이상에서 응집반응이 있을 경우에 양성으로 판정해야 한다고 증명하였으므로 본 실험에서도 TAT 1:100 이상 항체 고역가에서 ELISA와 일치율이 높아 ELISA 진단법을 이용해 screening test 보다 1차 RBT screening test 검사 후 2차 확인 검사법으로 ELISA test를 사용한다면 양성우 판정에서의 두 검사 방법상에는 차이가 없을 것으로 보이며 특히 진단 방법상의 오차를 줄일 수 있을 것으로 본다.

한편 허 등<sup>37)</sup>은 RBT와 ELISA 비교시험에

서 실험대상 109두 중 RBT에서 양성으로 판정된 38두 중에서 ELISA에서는 양성이 35두로 검출되어 92.1%의 일치율을 나냈으며, 또한 RBT에서 음성으로 판정된 71두 중 ELISA에서는 2두가 양성, 69두가 음성으로 판정되어 97%의 일치율을 보여 본 실험과 유사한 결과를 나타냈으나 양성두수 보다 음성두수에서 상대적으로 일치율이 높았기 때문에 ELISA 특성상 민감하게 음성에 더 많이 양성반응을 나타낸 본 실험과 차이가 있으며, 또한 공시 시료의 수의 차이가 있어 상관관계를 서로 비교하기에는 문제가 있는 것으로 보인다.

김<sup>41)</sup> 등은 CF 등 7종의 혈청학적 진단법을 비교시험한 결과, TAT(STT)에 대한 민감도는 CF 87.0%, ELISA 83.3% 순으로 높았고, 특이도는 Rivanol test가 97.7%, CF는 93.2%로 높았음을 보고하였고 다른 진단법과 마찬가지로 ELISA와 혈청학적 진단법과의 일치율에는 상당한 차이가 있는 것으로 또한 보고되었으며<sup>24,25)</sup> 이러한 진단 방법에 따라서 감염률이 6~15%까지 현저한 차이가 있는 것으로 나타나 이러한 진단 방법별로 선택이 중요하다고 보고하였다<sup>26)</sup>.

ELISA 진단법에서 현재 널리 사용되어지는 항원은 LPS이며, IgG1 항체검출 대한 ELISA의 특이성은 CF와 유사하며, 가검물 재료로 혈청뿐만 아니라 우유의 유청을 사용할 수 있는 장점이 있어 screening tests과 확진을 위한 검사방법으로 사용될 수 있다<sup>19, 21)</sup>.

임<sup>42)</sup> 등은 ELISA test와 평판응집반응법에 의한 브루셀라 양성 항체 검출 비교에서 93%의 일치율을 보였다고 보고하였고, 심<sup>43)</sup> 등은 OMP 항원을 이용한 ELISA test가 혈청 응집반응 검사법 보다 특이성과 감수성이 높다고 보고하였다.

한편 2종의 ELISA kits 간의 검출 감도의 차이에 대한 비교 시험에서는 유의성 있는 차이는 없었다.

TAT 항체가 25배 이상 양성 반응을 보인 양성우 139두를 대상으로 항체의 특이성과 시차에 따른 기간별 재현성 및 비특이성

발현 유무를 알아보기 위하여 양성 개체 기간별 (10일 간격 1회) 혈청 항체가의 변화 추이 비교 시험에서 항체가별 일정수준 유지가 76두 55%이었으며, 증가는 18두 13%, 감소가 44두 32%로 항체가 유지가 절반 이상이었으며, 특히 항체가 50배에서 감소율이 60%로 가장 높았으며, 200배 이상에서는 16% 정도로 항체가 감소율이 낮게 나타났으며, 특히 임신 및 유산우에서 두드러져 감염 진행상태에 의한 항체가가 일정수준 이상으로 유지되는 경향이 있었다.

그러나 일부 낮은 항체가 25배 및 50배에서 10일 후 100배 이상 고역가 항체가로 증가 하는 경우가 있었는데 이는 동거우 감염군에서 감염초기에 나타나는 항체가 변화현상으로 여겨지며, 동거우에서 유산 등 역학적으로 전염요인이 우려될 때 낮은 농도의 항체가가 방역상 중요한 결과를 초래 하는 것으로 나타났다.

김<sup>44)</sup>등은 소 브루셀라병의 혈청학적 진단으로 특이반응과 비특이반응을 구분하기 위하여 소에 *B abortus*를 점안 접종한 후 100% 감염을 확인하였고 항체가 최고 응집반응은 감염 후 14부터 20일 전후에서 나타났고 약 6개월간에도 1:100정도 유지된다고 하였다. 또한 유산과 정상 분만 전후 2주 만에 항체가가 급상승한다고 보고하였다.

본 실험에서도 유사하게 응집항체가 변화 추이가 확인되었으며, 특히 10일만에도 항체가 급상승변화가 인정되었으며, 혈청응집반응 검사법(TAT)에 의한 고역가 양성반응에서의 항체가에 대한 특이성과 재현성이 인정되는 것으로 보인다.

이상의 결과로 소 브루셀라병의 효과적인 방역대책 수립과 조기 근절을 위해서는 정확한 발생 원인과 역학적 분석이 중요하나 이에 앞서 정확한 진단법으로 조기에 양성우를 색출하는 것이 방역상 더 중요하므로 앞으로 정확하고 신속한 진단법 개발이 무엇보다 절실히 요구 된다.

우리나라의 브루셀라병 표준 혈청학적진단

법은 혈청 응집법으로 주로 사용되고 있어 ELISA 비교시험에서 혈청 응집법과의 일치율 차이에서는 큰 차이가 없어 ELISA 진단법도 실험실에서 적용 가능할 것으로 판단되며, 다만 screening 검사법보다 다량의 시료를 RBT 1차 검사 후 신속 정확한 확인검사가 요구 될 때 효율적인 검사법으로 사료되며, 현재 브루셀라병 농가방역을 위한 표준검사법으로 사용 중인 혈청응집반응 진단법은 항체가에 따라 비교적 민감하게 응집반응이 나타나 실험실에서 야외 브루셀라병 감염양성우 검색에 있어 가장 경제적이며, 검사방법 또한 간편하고 효율적인 진단법으로 판단되나 혈청 응집반응 진단법과 ELISA간의 민감도 차이점 특히 일부 음성결과에 따른 상반된 차이점에 대하여 더 많은 연구가 필요할 것으로 본다.

## 결 론

최근 소 브루셀라병 방역 강화에 따른 혈청학적 진단법으로 신속정확하고 효율적인 검사방법 개선을 위하여 기존의 혈청응집반응 검사법과 새로운 ELISA test와 비교 시험으로 실험실 적용시험과 진단 효능관정으로 효과적인 표준 혈청진단법 확립을 위하여 경남 북부지역 한·육우 브루셀라병 시험대상 공시우 총 710두를 대상으로 국가공인 혈청학적 진단법인 RBT, TAT, ELISA test(2종) 진단법을 이용하여 비교 시험을 실시한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1차 로즈벵갈법(RBT) 검사대상 710두 중 528두에서 완전무응집 음성반응을 나타냈으며, 182두에서 육안적으로 식별이 가능한 양성 응집반응이 나타나 항체가 응집반응형태 및 정도에 따라 ±, +, ++, +++ 로 분류가 가능하였다.

2차 시험관응집반응법(TAT)에 의한 항체역가별 응집반응과 비교 확인 시험을 위하여 RBT 음성포함 710두를 대상으로 비동화 혈청 항체가 희석배수(1: 25, 50, 100, 200, 400)

에 의한 혈청 응집반응 상태 비교 시험 결과 RBT과 TAT 비교에서 RBT 양성 응집반응에서 보다 무응집 음성 반응에서 더욱 더 TAT와 동일한 결과 나타났으며, 응집 양성 간에는 유의성 있는 차이는 없었다.

혈청 응집반응 진단법(TAT) 기준으로 2종의 ELISA 진단법 비교 시험에서 무응집 음성 판정 532두와 ELISA test 비교시험에서 ELISA가 5.6% 더 양성을 나타냈으며 이 중 2.1%에서 의양성으로 판정되어 ELISA 진단법이 TAT 음성에서 더 민감하게 반응하였다.

혈청 항체가 25배 이상의 양성응집반응 178두와 ELISA 비교시험에서 155두 87%가 ELISA 양성으로 판정되었으며, 시험관법(TAT) 항체가 100배 이상의 양성 판정 134두에서는 131두(98%)가 ELISA 양성으로 나타났고, 이 중 3두(2%)에서 의양성으로 나타났다.

시험관 항체가 50배 이상의 양성결과 치에서는 5%, 100배 이상의 양성 판정 결과에서는 2%정도에서 음성으로 판정되어 95% 이상 일치율을 나타내었다.

시험 대상 총 710를 대상으로 TAT와 ELISA의 비교에서 ELISA에서 양성 7%정도 더 검출되어 혈청 응집반응진단법 보다 더 특이적이고 민감하게 반응한 결과로 보이며, 이는 TAT 양성보다 음성 결과에서 더 민감한 차이를 보였다.

TAT기준 2종의 ELISA(Svanova, CHEKIT) tests 간의 유의성 있는 차이는 없었다.

시험관응집반응 기준 25배 이상 응집 양성 항체가 유지 수준 기간별(10일 간격 1회) 혈청 항체가의 변화 추이 비교 시험에서 공시우 139두 중 항체가 별 일정 수준 유지가 55%이었으며 증가는 13%, 감소하는 경우는 32%로 항체가 유지가 절반 이상이었으며, 특히 항체가 50배에서 감소율이 60%로 가장 높았으며, 200배 이상에서는 감소율이 가장 낮게 나타났다.

이상의 결과에서 로즈벵갈법과 시험관응집반응법의 혈청 항체가 응집반응 비교시험한 결과 유의성 있는 차이가 인정되지 않았으며 또한 ELISA 진단법과의 비교시험에서 시험관

응집반응에서의 음성 결과의 수보다 5%정도에서 민감하게 양성 5%가 검출되었으나 실험실에서 혈청검사 진단법으로 기존의 혈청응집반응법외 ELISA 진단법도 사용이 가능한 것으로 판단되어 일시적으로 다량의 시료를 신속한 확인 검사 결과가 요구될 시 효율적이다. 그러나 기존의 혈청 응집반응진단법이 더 간편하고 경제적이며 효율적인 진단법으로 판단된다.

## 참고문헌

1. 국립수의과학검역원. 2006. 동물 부루셀라병 국제 심포지움. 1-163.
2. 김금화, 안수환, 박용호 등. 1982. 부루셀라병 검색에 사용되는 여러 가지 혈청학적 진단법의 비교연구. 대한수의학회지. 22(2): 149-153.
3. 김두희, 정병탁, 문재봉. 1968. 부루셀라 감염한우에 대한 혈청학적 연구. 농사시험연구보고 11:1-18.
4. Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW et al. 1988. *Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals*. Cornell University Press. 8 eds. Ithaca: 135-152.
5. Morgan WJB, Mackinnon DJ, Cullen GA. 1969. The Rose Bengal Plate agglutination test in the diagnosis of brucellosis. *Vet Rec* 85:636.
6. Myer ME. 1990. *Brucella of Review of Veterinary Microbiology*. Blackwell Scientific Publication Inc: 250-258.
7. Ariza J, Servitje O, Pallares R, et al. 1989. Characteristic cutaneous lesions in patients with brucellosis. *Arch Dermatol* 125: 380-383.
8. Berger TG, Guill MA, Goette DK. 1981. Cutaneous lesions in brucellosis. *Arch Dermatol* 117: 40-42.
9. Qiomm PJ, Carter ME, Markey B, et al.

1994. *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe Press : 261-267.
10. Tekkoke KIH, Berker M, Ozcan et al. 1993. Brucellosis of the spine. *Neuro-surgery* 33 : 838-844.
11. Vallat B, 2004. *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)*. 5 eds. Office International Des Epizooties. Paris : 409-438.
12. 농촌진흥청 가축위행연구소. 1991. 한국의 가축위생연구(가축위생연구소 80년사). 박근식 발행. 박정문 편집. 도서출판 상록 : 77-82.
13. 농림수산부예규. 1988(1. 11). 제 142호 제 10조 제 15조.
14. 농림부. 제 2007-15(2007.03.16)호. 결핵병 및 부루셀라병방역실시요령.
15. 박동권, 이창희. 1959. 우리나라에 발생한 축우 *Brucella* 증에 대하여. *수의계* 3 : 192-195.
16. 손준용, 이길웅, 유재창 등. 1986. Zoonosis 부루셀라증에 관한 연구. *국립보건원보* 23 : 281-295.
17. 임윤규, 양기천, 이경갑 등. 1995. SDS 처리한 부루셀라항원과 *Yersinia enterocolitica* 0:9주의 혈청학적 교차반응 연구. *대한수의학회지* 35(1) : 143-148.
18. 정석찬, 조동희, 남향미 등. 2007. 국내 소 *Brucella*병의 발생 및 연구동향. *한국수의 공중보건학회지* 31(2) : 91-103.
19. Alton GG, Jones LM, Pietz DE. 1975. *Laboratory techniques in brucellosis. Monograph series*. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
20. Alastair M. 1990. *Conventional serological tests*. In: *Animal Brucellosis*. Mielsen K, Duncan R, ed. CRC Press : 153-198.
21. OIE. 2004. *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals*. 5 eds : 409-438.
22. Godfroid J, Saegerman C, Wellemans V, et al. 2002. How to substantiate eradication of bovine brucellosis when aspecific serological reactions occur in the course of brucellosis testing. *Vet Microbiol* 90 : 461-477.
23. Nielsen K. 2002. Diagnosis of brucellosis by serology. *Vet Microbiol* 90 : 447-459.
24. 김금화, 안수환, 박용호 등. 1982. 부루셀라병 검색에 사용되는 여러 가지 혈청 진단법의 비교 연구. *대한수의사학회지* 22(2) : 149-153.
25. Lambert G, Amerault TE. 1962. Comparative study of three serological tests for detecting the response in cattle to virulent *Brucella abortus*. *Am J Vet Res* 23 : 529-537.
26. Flores-Castro R, Carmichael LE. 1980. Canine brucellosis. *Curr Vet Ther* 7 : 1303-1305.
27. Alton G.G, Jones LM. 1975. *Laboratory techniques in brucellosis*. World Health Organization, Geneva : 1-163.
28. USDA. 1985. *Brucellosis eradication: Uniform methods and rules*. Animal and Plant Health Inspection Service, Iowa.
29. Morgan WJA, Mackinnon DJ, Gill KW. 1978. *Brucellosis diagnosis standard laboratory techniques*. 2 eds. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food : 1-53
30. Nielson K, Kelly L, Gall D, et al. 1996. Comparison of enzyme immunoassays for the diagnosis of bovine brucellosis. *Prev Vet Med* 26 : 17-32.
31. Wright PF, Nilsson Em Van Rooij EMA, et al. 1993. Standardization and validation of enzyme-linked immunosorbent assay techniques for the detection of antibody in infectious disease diagnosis. *Rev Sci Tecdh Off Int Epiz* 12 : 435-450.
32. Morgan WJB, MacKinnon DJ, Lawson

- JR, et al. 1969. The rose bengal plate agglutination test in the diagnosis of brucellosis. *Vet Rec* 85: 636-641.
33. Alton GG, Jones LM, Angus RD, et al. 1988. *Techniques for the Brucellosis laboratory*. Institut National de la Recherche Agronomique. Paris.
34. 농림부, 국립수의과학검역원. 2006. 소 부루셀라병표준방역지침: 3-88.
35. George WB. 1995. Handbook of zoonoses. 2 eds. CRC Press. London: 9-39.
36. USDA. 2003. *Brucellosis eradication: uniform methods and rules*. Animal and Plant Health Inspection Service, Iowa: 1-121.
37. 허진, Kakoma I, 정재명, 등. 2007. 소 브루셀라병의 혈청학적 진단법 비교 실험. *한가위지* 30(3): 385-391.
38. Pama AE, Santisteban G, Margini RA. 1984. Analysis and *in vivo* agglutination and nonagglutination antibodies. *Vet Microbiol* 9: 391-398.
39. Wright PF, Tounkara K, Lelenta M, et al. 1997. international reference Standards: antibody standards for the indirect enzyme-linked immunosorbent assay. *Rev Sci Tech* 3: 824-832.
40. 김수업. 1956. Brucella abortus 19 strain 과 Enteric bacteria와의 혈청 면역학적 관계. 가축위생연구소 연구보고 4: 39-76.
41. 김종만 정석찬, 박정문, 등. 1988. 부루셀라 양성우에서 분리한 부루셀라균의 성장과 혈청학적 진단법 비교. *농사시험 연구논문집(가축위생편)* 20(1): 1-6.
42. 임윤규, 이두석, 박진홍, 등. 1993. 축우 부루셀라병의 ELISA 진단법에 관한 연구. *대한수의학회지* 33(1): 131-135.
43. 심항섭, 국정희, 정봉수, 등. 1998. 효소면역법을 이용한 *Brucella abortus* 항체 검출에 관한 연구. *한가위지* 21(2): 107-115.
44. 김병구, 정병탁, 차연호. 1963. Brucellosis 에 대한 혈청학적 검토(1) 특히 인공감염한우를 중심으로 한 고찰. *가축위생연구소* 9: 40-50.