한국가축위생학회지 제35권 제4호 (2012)
Korean J Vet Serv, 2012, 35(4), 263-268
pISSN 1225-6552, eISSN 2287-7630
http://dx.doi.org/10.7853/kjvs.2012.35.4.263

Korean Journal of
Veterinary Service
Available online at http://kjves.org

< Original Article >

소 브루셀라병 동시 다두 발생 농장의 발생 요인 조사

김지연[1] · 강신석[2] · 허 문[1]* · 이기찬[1] · 성소라[1] · 구정희[1]
강성일[1] · 이향근[1] · 김유진[1] · 김동길[1] · 정석찬[1]

[1]농림수산검역검사본부 동식물위생연구부 세균질병과 브루셀라병 OIE 표준실험실, [2]충북 축산위생연구소 북부지소

Investigation of occurrence factors on brucellosis-outbreak farm in Korea

Ji-Yeon Kim[1], Shin-Seok Kang[2], Moon Her[1]*, Kichan Lee[1], So-Ra Sung[1], Jung-Hui Gu[1], Sung-Il Kang[1], Hyang-Keun Lee[1], Yu-Jin Kim[1], Dong-Gil Kim[1], Suk-Chan Jung[1]

[1]*OIE Reference Laboratory for Brucellosis, Animal, Plant and Fisheries Quarantine & Inspection Agency, Anyang 430-757, Korea*
[2]*Chungju Branch, Chungbuk Livestock and Veterinary Research Institute, Chungju 380-230, Korea*

(Received 23 October 2012; revised 21 November 2012; accepted 23 November 2012)

Abstract

From the end of July 2012, several cases of abortion have been happened at the Korean indigenous cattle farm with 124 heads in Chungbuk province, Korea. Serological tests such as Rose-bengal test (RBT) and standard tube agglutination test (STAT) have been performed according to the standard official protocols of bovine brucellosis and 41 cattle turned out to be brucellosis-positive simultaneously. To find out the main factors of brucellosis outbreaks and spreads, additional serological, etiological and molecular investigation were applied. Totally, 11 *B. abortus* were isolated from 10 cattle's specimens including lymph-nodes and/or testis, and drinking water in cowhouse. In genotyping by multi-locus VNTR assay (MLVA) using 17 loci markers, the present *B. abortus* isolates were shown all the same pattern, D1 genotype, which has been reported in Gyeonggi and Gangwon province, Korea. These results suggest that the input of brucellosis might come from neighboring farms directly or indirectly, even if by unknown factor and expansion within farm would accelerate by materials related with aborting cows.

Key words : *Brucella abortus*, MLVA, Serology, Etiology

서 론

브루셀라병은 *Brucella* 속균에 의해 일어나는 제2종 가축전염병으로, 소, 양, 염소, 돼지, 개 등에 감염되어 주로 유산 및 불임을 유발하는 주요 인수공통전염병 중의 하나로 꼽히고 있다(Timoney 등, 1988; Park 등, 1999; Kim 등, 2005). *Brucella* 속균은 보통 숙주 선호성(host-preference)이 있는 것으로 알려졌지만 다른 가축 및 동물에도 교차 감염이 종종 발생하기도 한다(Ryu 등, 2007; Jung 등, 2010). 현재까지 *B. abortus* (소), *B. melitensis* 및 *B. ovis* (양 및 염소), *B. suis* (돼지), *B. canis* (개), *B. ceti* 및 *B. pinnipedialis* (해양 포유동물), *B. neotomae* (설치류), *B. microti* (들쥐), *B. inopinata* (사람)의 총 10종의 속균이 보고되고 있다(Her 등, 2010; Banai와 Corbel, 2010; Troung 등, 2011). 브루셀라균은 그람 음성의 세포 내 기생 세균으로 일단 감염되면 암컷에서 보통 임신 말기에 유·사산을 일으키며, 이 때 발생하는 유산 태아나 태반 및 후산물 등에 다량의 균을 함유하게 된다. 또한, 유산 후 배출되는 질루에도 브루셀라균이 고농도로 배설되며 우유를 통해 배출하기도 해 농장 내 감염원이 될 수 있으며, 수컷에 감염 시에는 보통 임상 증상이 나타나지 않으면서 고환염이나 부고환염을 일으킨다(Kim 등, 1999; Ryu 등, 2007; Yang 등, 2007; Lee 등,

*Corresponding author: Moon Her, Tel. +82-31-467-1776, Fax. +82-31-467-1778, E-mail. herm@korea.kr

Copyright © 2012, The Korean Society of Veterinary Service. All Rights Reserved.

2009). 이외에도 오염된 사료나 물 등의 농장 내 환경 및 농장 내 개나 고양이 등을 통해서도 감염이 전파될 수 있으며, 이 밖에 교미나 인공수정을 통한 생식기나 태반 감염 역시 브루셀라병 감염 전파 경로가 될 수 있다(Prior, 1976; Yoon 등, 2004; Ryu 등, 2007).

현재 국내 브루셀라병의 방역은 검진 및 살처분(test and slaughter) 정책에 따라 젖소 농장에서 집유된 원유나 국내에서 사육되고 있는 생후 12개월 이상 소들을 대상으로 집합유의 경우 밀크링 반응법을, 소에 대해서는 로즈벵갈 응집반응법(RBT)으로 일차 스크리닝을 하고, 양성인 경우 일반적으로 시험관응집반응법(STAT)을 이용해 이차 확인 검사를 실시하여 혈청희석배수 1:100 이상에서 응집반응이 일어나 양성우로 판정되면 검사 후 10일 이내에 살처분하도록 정하고 있다(Lee 등, 2009; Jung 등, 2010). 이렇듯 강력한 브루셀라병 방역 정책에 의해 우리나라는 2006년도 소 브루셀라병의 발생률은 2.02%를 정점으로 매년 꾸준히 감소하여 2008년엔 0.85%, 2010년 기준으로는 0.34%까지 낮아져 세계동물보건기구(OIE) 청정국 지위 기준인 0.2%에 점차 근접하고 있다(Jung 등, 2010). 그럼에도 전국적으로 산발적인 브루셀라병 발생은 계속되고 있으며, 또한, 1농가에서 1두만 브루셀라병 양성 판정을 받는 비율이 전체 발생 농가의 절반 이상을 차지하고 있다. 이런 가운데 최근 3년간 브루셀라병 발생이 없었던 충북 음성 소재 한 농가에서 2011년 연말부터 종모우와 자연 종부를 시행하고 있었으며 브루셀라병 정기검진사업 일정에 따라 2012년 3월경 종모우 및 암소에 대한 브루셀라병 음성을 통보받았으나, 올 7월 중순 이후부터 농가 내 일부 개체에서 유산이 발생하였다. 이후 관할 충북 축산위생연구소 북부지소에서 유산우 4두 및 종모우에 대한 브루셀라병 혈청검사를 한 결과 양성으로 판정받은 후 같은 농장 1세 이상 성축 95마리를 대상으로 추가 혈청검사한 결과 41마리가 브루셀라병 양성우로 동시에 판정된 사례가 있었다.

이에 이번 연구에서는 농장에서 브루셀라병이 동시 다발적으로 발생된 주요 감염 전파 요인을 조사하고자 종모우를 포함하여 양성 판정된 동거우의 조직(림프절 등) 및 환경 시료(분변 및 음수)를 대상으로 혈청 검사와 균 분리 등 세균학적 조사 및 분자생물학적 기법을 활용하여 이 농가의 브루셀라균 유입경로를 조사해 보고자 하였다.

재료 및 방법

농장 현황

본 사례 농장은 작년 구제역 백신접종 후 수태율 저하 문제 해결을 목적으로 2011년 12월경부터 자연종부를 시행하고 있었다. 올 3월 브루셀라병 일제 검진사업에서 1세 이상의 암소와 종모우 등 전체 사육두수 127두 중 57두를 검사했을 때 모두 음성으로 판정되어 이후에도 지속해서 자연 종부를 시행하였다. 그러던 중 2012년 7월 20일에 3마리, 28일에 한 마리가 유산하게 되면서 충북 축산위생연구소 북부지소에 유산우 4마리와 종모우 1마리에 대하여 정밀 검사를 의뢰한 결과 5마리 모두 브루셀라병 양성 판정을 받았다. 이후 일차적으로 유산우 동거축과 거세우 포함 1세 이상 성축 95마리를 대상으로 8월 초 검사한 결과 41마리가 양성으로 판정되었다. 여기에는 유산우와 같은 축사에 있던 동거축 뿐만 아니라 농로길을 사이에 두고 3 m 간격으로 따로 떨어져 있는 거세우 축사에서도 발견되었으며, 양성우 발생 두수는 전체 축사에 고르게 분포되었으나 유산우가 있는 축사에서 특히 많이 발생한 상황이었다.

시료채취

2012년 8월 충북 북부 지소 관할 음성 소재의 124두 규모의 한우 농장에서 브루셀라병 양성인 41두 중 10두에서 혈액 및 림프절 등의 조직 시료 24점을 부검을 통해 확보하였다. 채취한 혈액은 혈청 분리를 통해 혈청검사에, 조직 시료는 균 분리 및 유전자 검사에 이용하였으며, 분변 및 우사 내 음수통 4곳에서 음수 등의 환경시료도 채취하였다.

혈청학적 검사

RBT, STAT, competitive ELISA kit (Svanova, Sweden)를 이용하여 혈청검사를 하였다. 채혈한 소 혈액을 2,210 G에서 20분간 원심침전 후, 혈청을 분리한 후에 30분 간 56°C 항온 수조에서 비동화시킨 뒤 실험 전까지 -20°C 냉동고에서 보관하였다. 각 혈청검사 전 실온에 30분 이상 정치시킨 후 실시하였고, 혈청검사는 응집항원 종류 및 키트 내 사용설명서에 따라 실시하여 그 검사 결과를 개체별로 기록하였다.

균 분리 및 동정

브루셀라균 분리를 위하여 채취한 조직 샘플(악하 림프절, 서혜 림프절, 유방상 림프절 등)을 일부 잘라 멸균한 막자사발에 넣고 조직 표면을 알코올램프로 순간 화기 멸균시킨 뒤, 내부 조직을 떼어 1 ml의 멸균 PBS와 혼합한 뒤 조직을 최대한 분쇄하였다. 분쇄한 조직 시료를 멸균 면봉으로 취하여 modified *Brucella* selective medium (MBS) (Her 등, 2010)과 5% 소혈청이 함유된 tryptic soy agar (BD, USA)에 고르게 도말하였다. 한편 음수통에서 채취한 음수 시료 4점과 비강 및 분변 시료도 같은 배지에 도말하여 5% CO_2 배양기에서 37°C 조건하에 3～4일간 배양하였다. 또한, 추가적으로 균 배양을 위해 분쇄시킨 조직 시료를 각각 10 ml의 tryptic soy broth (BD, USA)에도 증균 배양하였다.

유전자(PCR) 검사

선택배지에서 자란 집락 중 catalase, oxidase 및 urease 양성인 브루셀라균 특유의 성상을 보이는 집락을 선별하여 순수배양하고, DNA extraction kit (Qiagen, Korea)를 이용하여 설명서에 따라 DNA를 추출하였다. 그 뒤 master mix kit (Bioneer, Korea)를 이용하여 브루셀라균종 검색을 위한 advanced multiplex PCR을 95°C/2분(predenaturation) 실시한 후, 95°C/35초 (denaturation), 64°C/45초 (annealing), 72°C/3분 (extension), 35 cycle의 조건으로 설정하고 최종 extension 단계는 72°C/6분으로 반응시켰다(Kang 등, 2011). PCR 반응 완료 후 반응혼합액 10 μl를 1× TBE buffer로 만든 1.5% agarose gel과 ethidium bromide를 이용하여 전기영동을 실시하였다. 전기영동 후에는 해당 gel을 UV 하에서 브루셀라균 종의 각각에 대한 특이 증폭 산물을 확인하였다.

Multi-locus VNTR assay (MLVA) typing

Her 등(2009)이 발표한 MLVA의 17 loci marker를 이용하여 이번 음성 소재 농장에서 분리된 브루셀라 분리주의 유전자형을 비교 분석하였다. *B. abortus* 544 표준균주와 비교하여 각 marker의 반복지수(tandem repeat)를 분석하였고 기존 분리주와의 MLVA profile을 비교하여 분리주의 유전자형을 확인하여 다른 지역 분리주와 유사한지 알아보고자 하였다.

결 과

혈청검사 및 브루셀라균 분리

살처분 당일 부검하여 조직을 채취한 개체 10마리의 가검조직인 악하, 서혜, 유방상 림프절 및 고환 등 24점 모두에서 브루셀라균이 분리되었는데, 혈청검사 결과에서 의양성을 보인 송아지의 악하 림프절에서도 브루셀라균이 분리되었다(Table 1). 또한, 농장 내 음수통에서 채취한 음수 시료 4점 중 1점에서도 가검

Table 1. Serological results and identification of *B. abortus* from slaughtered cattle and drinking water

No. of cattle	Sex	Age (month)	Serological results			Specimens*	Strain identification		Notes
			RBT	STAT	ELISA		Culture	PCR	
0543	Male	33	+++	200+	+	SML, IL, SPL, T	4/4†	4/4	Breeding bull
2176	Female	38	++	200+	+	SML, IL	2/2	2/2	
2386	Female	28	+++	400+	+	SML, IL	2/2	2/2	
3428	Female	29	+++	400+	+	SML, IL	2/2	2/2	
3675	Calf	5	+	50±	−	SML, IL	2/2	2/2	
5108	Female	53	+++	400+	+	IL, SPL	2/2	2/2	
6993	Bullock	27	+++	200±	+	SML	1/1	1/1	
7183	Bullock	14	+	100+	+	SML, IL, SPL	3/3	3/3	
8780	Female	47	+	100±	+	SML, IL, SPL	3/3	3/3	
8784	Female	49	+++	100±	+	SML, IL, SPL	3/3	3/3	
Drinking waters			NT‡	NT	NT	4 positions	1/4	1/4	
Feces in stall			NT	NT	NT	4 positions	0/4	0/4	

*SML: submandibular lymph node, IL: inguinal lymph node, SPL: suprammary lymph node, T: testis. †The number of isolated / tested specimens. ‡Not tested.

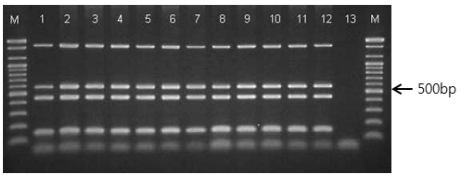

Fig. 1. Multiplex PCR of *B. abortus* isolates from organs and drinking water. Lane M; 100 bp DNA marker, lane 1: *B. abortus* 544 reference strain (positive control), lane 2～lane 11: DNAs of *Brucella* isolates from slaughtered cattle, lane 12: DNA of *Brucella* isolate from drinking water, lane 13: Negative control.

조직에 비해 적은 수이긴 하지만 브루셀라균이 배양되었다. 그러나 분변 시료에서는 일반 잡균에 의한 오염으로 브루셀라균 단독 분리는 불가능하였다. 분리된 브루셀라균주가 모두 육안으로 동일한 성상에 catalase, oxidase 및 urease 양성으로 기본적인 생화학적인 특성도 일치하였다. 감염 개체와 농장 내 음수에서 분리된 균주에 대한 advanced multiplex PCR을 실시한 결과는 Fig. 1과 같다. 표준균주 *B. abortus* 544와 해당 농장에서 브루셀라병 양성 개체에서 분리된 균주 및 농장 음수통에서 분리된 균주 모두 브루셀라균 특이 증폭 산물인 152, 450, 587 및 1,682 bp의 4가지 특이 증폭 산물이 확인되어 분리주가 *B. abortus*임을 확인하였다.

MLVA typing

이번 실험에서 분리된 24주의 분리주 중 개체별 10주와 음수에서 분리된 1주, 총 11주를 대상으로 17가지의 MLVA loci marker를 이용하여 MLVA typing을 실시한 결과, 11주의 모든 분리 균주가 같은 패턴을 보여 동일한 유전형으로 확인되었다. 17가지 loci marker를 이용한 이번 실험 분리주의 유전자 프로파일은 “4-4-4-5-3-4-12-3-6-21-8-6-2-3-3-3-6”으로, 기존에 분리된 브루셀라 균주의 유전자형인 D1형과 일치하였다.

고 찰

브루셀라균은 세포 내 기생세균으로 다른 그람 음성 세균과는 달리 일반적인 병원성 인자로 알려진 exotoxin, cytolysin, capsule, fimbria 등은 없지만 대식세포 내에서 사균 반응을 피하거나 억제하는 여러 기전을 통해 생존할 수 있다고 밝혀진 바 있다(Seleem 등, 2008; Martirosyan 등, 2011). 소를 비롯한 반추동물에서 브루셀라균의 주된 임상 증상은 암컷에서 임신 말기 유산인데, 이는 반추류 태반 조직 내에 고농도로 존재하는 four-carbon alcohol sugar 일종인 erythritol의 작용에 기인하는 것으로 알려졌다. 즉 erythritol이 풍부한 임신우의 영양막(trophoblast)에서 브루셀라균이 급속하게 증식하게 되면 이 때문에 태반에 염증을 유발하게 되어 결과적으로 유산을 일으키게 되는 것이다(Meador와 Deyoe, 1989; Jain 등, 2012). 이러한 브루셀라병 발병 기전과 이번 사례의 농장을 적용해 보면, 2012년 3월 브루셀라병 검진 사업 시 종모우나 유산우가 모두 혈청 검사에서 음성이었으므로 실제적인 브루셀라병 감염은 잠복기까지 고려하여 3월 전후인 것으로 판단된다.

그리고 일단 임신이 되면 종부를 꺼리는 암소 습성상 이미 작년 말부터 종부를 시행해 온 점을 고려하면 종모우로부터 감염이 시작된 것은 아니라 생각한다. 만약 종모우로부터 감염이 되었다면, 다른 암컷에 전파 가능한 정도로 브루셀라병 감염이 진행된 상황이므로 3월 검진사업에서 종모우는 양성으로 나와야 했을 것이기 때문이다. 그리고 동거축의 브루셀라병 동시 감염은 임신우가 유산 약 2주 전부터 배출하는 질루에 매우 높은 고농도의 브루셀라균을 함유하고 있는 만큼, 7월 초부터 분비된 질루나 유산된 태아 등에 직접적으로 접촉하면서 급속도로 브루셀라병이 전파된 것으로 설명할 수 있다. 또한, 축사 내 음수에서도 적은 수나마 브루셀라균이 분리된 것으로 볼 때, 수압식으로 음수를 제공하는 이번 농가의 특성상 같은 음수를 이용하는 축사에서 더 많은 브루셀라병 양성우가 나온 것은 음수 역시 브루셀라병 전파 경로 중 하나로 작용하였음을 확인할 수 있었다. 이외에 유산우 축사와 떨어져 있는 거세우 축사에서도 분방별로 고르게 양성우가 나온 것은 감염 암컷의 질루나 유산 시 배출하는 태반 등의 후산물을 취급한 농장주나 종사자의 장갑이나 장화, 축산기구 등을 통하여 직접 또는 간접적인 경로를 통해 농장 내 동거축으로 전파된 것으로 생각한다(Nicoletti, 1980; Ryu 등, 2007; Jung 등, 2010).

덧붙여, 이번 발생 농장과 50 m 거리에 있는 인접 농장에서 2011년 11월 말 브루셀라병 발생 때문에 현재 축사가 비어 있는 상태였는데, 이 농장에서 발생했던 브루셀라균이 토양 등 주변 환경에 존재하다 농장주나 사료 운반 차량, 그리고 설치류나 고양이 등의 야생동물 등을 통해 이번 발생 농장으로 유입되었

을 가능성도 완전히 배제할 수는 없다.

한편, 이번 발생 농장에서 분리된 브루셀라 균주는 Her 등(2009)이 적용한 감별력이 높은 MLVA의 17 loci marker를 이용하여 유전자형 검사를 수행하였다. 그 결과 분리 균주가 모두 같은 패턴을 나타내어 대상 농장의 브루셀라병 오염원이 동일함을 확인할 수 있었다. 이번 연구를 통해 확보된 분리주는 국내 브루셀라 분리주 177주를 대상으로 분류한 그룹형 중 D 그룹에 속했는데, 이 그룹은 국내 분리주 중 가장 많은 비율을 차지하고 있는 유전형이다. 이번 분리주는 D 그룹 중에서도 D-1 그룹에 포함되며 기존 강원 횡성 및 경기 화성 분리주가 여기에 분포되어 있지만, 기존 충북 분리주는 D 그룹과 E 그룹에 분포되어 있었다(Her 등, 2009).

결론적으로, 이번 발생 농장 사례에서도 알 수 있듯이 브루셀라병의 전파 경로는 매우 다양하며 잠복기를 고려하면 연 1회 실시하는 브루셀라병 검진사업에서 음성 반응이 나왔더라도 안심할 수 없음을 확인할 수 있었다. 그러므로 농장주는 자연 종부는 가급적 자제해야 하며 필요하면 관할 가축방역기관에 의뢰하여 브루셀라병 검사 후 시행하는 것이 피해를 최소화할 방법이라 하겠다. 수소의 경우 감염되어도 고환염이나 부고환염 등을 앓고, 암소의 경우 유산 등의 임상 증상이 발현되기 전까지 감염 여부를 육안으로 확인할 수 없으므로 확진 전까지 지속해서 감염을 전파시킬 우려가 있다는 것을 명심해야 할 것이다. 그리고 감염우를 통해 배출된 브루셀라 균체는 축사 토양 및 음수에 장기간 생존하기 때문에 농장주가 다른 축사로 이동 시마다 장화나 장갑을 소독하거나 갈아입는 등 브루셀라병을 포함한 다른 질병의 전파 방지를 위하여 기본적인 방역수칙을 철저히 지켜야 할 것으로 판단된다.

결 론

이번 연구를 통해 2012년 충북 음성지역 한우 약 120여 두 규모의 농장에서 동시 다발적으로 발생한 소 브루셀라병의 혈청학적 및 분자생물학적 조사를 통해 3월 브루셀라병 검진사업 시에는 음성이었던 개체들이 7월 말에 동시다발적으로 브루셀라병이 발생한 데 대한 요인을 조사한 결과 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. 유산우와 같은 축사에서 서식하던 동거우를 포함하여 총 10두의 림프절 등의 조직 및 환경 시료에 대하여 혈청검사 및 유전자검사를 수행한 결과 조직과 음수 시료에서 브루셀라균을 분리하였다.
2. 분리주들을 대상으로 기존 논문에서 발표한 감별력 높은 17 loci marker를 이용하여 MLVA에 의한 유전형 감별을 실시한 결과 모든 분리주의 유전형별이 동일하여 오염원이 같음을 확인하였으며, 기존 브루셀라 분리주 177주의 유전형과 비교한 결과 국내에서 가장 흔한 유전형으로 그 중에서도 강원 횡성 및 경기 화성 분리주와 동일하였다.
3. 브루셀라병에 대한 3월 검진사업 시 혈청검사 결과와 유산 시기 등을 고려할 때 브루셀라병 감염 시기는 대략 검진사업 전후로 예상되며, 유산우의 질루 또는 유산태아 등 유산관련 물질 및 음수를 통해 동거축에 급속하게 전파되어 동시다발적으로 브루셀라병 감염이 일어난 것으로 생각된다.

감사의 글

This research was supported by Animal, plant and fisheries Quarantine and Inspection Agency, MIFAFF, Korea (Project No.: C-AD13-2011-13-01).

참 고 문 헌

Banai M, Corbel M. 2010. Taxonomy of *Brucella*. The Open Vet Sci J 4: 85-101.

Her M, Cho DH, Kang SI, Lim JS, Kim HJ, Cho YS, Hwang IY, Lee T, Jung SC, Yoo HS. 2010. Outbreak of brucellosis in domestic elk in Korea. Zoonoses Public Health 57: 155-161.

Her M, Kang SI, Cho DH, Cho YS, Hwang IY, Heo YR, Jung SC, Yoo HS. 2009. Application and evaluation of the MLVA typing assay for the *Brucella abortus* strains isolated in Korea. BMC Microbiol 9: 230.

Jain N, Boyle SM, Sriranganathan N. 2012. Effect of exogenous erythritol on growth and survival of *Brucella*. Vet Microbiol 160: 513-516.

Jung SC, Her M, Kim JW, Kim JY, Hwang IY, Ku BK, Park YH, Yoo HS. 2010. Bovine brucellosis in Korea. J Zoonoses 1: 1-15.

Kang SI, Her M, Kim JW, Kim JY, Ko KY, Ha YM, Jung SC.

2011. Advanced multiplex PCR assay for differentiation of *Brucella* species. Appl Environ Microbiol 77: 6726-6728.

Kim ST, Yoon KB, Kang TK, Bak WH, Lee JH, Chung DS. 2005. Brucellosis outbreak of Korean indigenous cattle at Yeongwol and Pyeongchang county in Korea. Korean J Vet Serv 28: 387-392.

Kim SY, Kim JH, Kim DW. 1999. A serological survey on large outbreak of bovine brucellosis in dairy farm. Korean J Vet Serv 22: 159-167.

Lee BY, Higgins IM, Moon OK, Clegg TA, McGrath G, Collins DM, Park JY, Yoon HC, Lee SJ, More SJ. 2009. Surveillance and control of bovine brucellosis in the Republic of Korea during 2000-2006. Prev Vet Med 90: 66-79.

Martirosyan A, Moreno E, Gorvel JP. 2011. An evolutionary strategy for a stealthy intracellular *Brucella* pathogen. Immunol Rev 240: 211-234.

Meador VP, Deyoe BL. 1989. Intracellular localization of *Brucella abortus* in bovine placenta. Vet Pathol 26: 513-515.

Nicoletti P. 1980. The epidemiology of bovine brucellosis. Adv Vet Sci Comp Med 24: 69-98.

Park NC, Kim SY, Cho KH, Do JC, Kim YH, Shin SH, Cho MH, Oh KH, Kim WH, Kim JH, Jyeong JS, Kim SW, Kim BH. 1999. Studies on the brucellosis in Kyongbuk area. Korean J Vet Serv 21: 451-465.

Prior MG. 1976. Isolation of *Brucella abortus* from two dogs in contact with bovine brucellosis. Can J comp Med 40: 117-118.

Ryu JY, Bun JH, Lee HY, Lee YC, Lee JJ, Song YG, Nam HM. 2007. Isolation of *Brucella* spp from sero-positive native bulls and calves below twelve months old. Korean J Vet Serv 30. 375-384.

Seleem MN, Boyle SM, Sriranganathan N. 2008. *Brucella*: a pathogen without classic virulence genes. Vet Microbiol 129: 1-14.

Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE. 1988. Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. 8ed. pp. 135-152. Cornell University Press, USA.

Troung LQ, Kim JT, Yoon BI, Her M, Jung SC, Hahn TW. 2011. Epidemiological survey for *Brucella* in wildlife and stray dogs, a cat and rodents captured on farms. J Vet Med Sci 73: 1597-1601.

Yang SJ, Shim HS, Woo JT, Kim HS, Lee SS. 2007. Bacteriological detection of *Brucella abortus* and its characterization by PCR in the sporadic outbreak of bovine brucellosis in Gyeonggi province. Korean J Vet Serv 30: 251-258.

Yoon YB, Kim YJ, Kim CC, Rho YS, Kwon MS, Kim CM, Lim CW. 2004. Epidemiological study for infection route of brucellosis in a infected dairy farms. Korean J Vet Serv 27: 159-164.