

브루셀라病 檢索에 使用되는 여러가지 血清診斷法의 比較研究

金錦華 · 安壽煥 · 朴龍浩 · 金東成

農村振興廳 家畜衛生研究所

緒 論

브루셀라病은 哺乳動物 特히 소, 돼지, 山羊, 綿羊에 流産 및 不妊症을 일으키며 사람에게 感染되던 Malta fever 또는 Melitensis fever를 유발하는 人獸共通傳染病으로 公衆衛生上 重要한 疾病이다.^{18,19)}

우리나라는 1955年度까지 브루셀라병의 非常在地域이 었으나 1956年度에 美國에서 導入한 乳牛群에서 本病의 첫 發生報告가 있는 後 1958年度에는 國立種畜場 本所 및 支所의 豚群에서, 1960年度에는 濟州牧場의 導入 肉牛群에서 集團發生하였다. 그 후 산발적이기는 하지만 점차 發生頻도가 減少하였이나 근자에 肉牛 및 乳牛의 導入이 急増함에 따라 本病의 發生이 증가하는 추세에 있다.²⁵⁻²⁷⁾

브루셀라병을 根絶하기 위하여 各國에서는 相當한 努力을 기울이고 있다.^{8,9,17)} 美國의 경우 Card test를 비롯하여 표준평판응집반응시험(SPT), 표준시험관응집반응시험(STT), 보체결합반응시험(CFT),²⁾ Rivanol test 등을 브루셀라병 檢索에 사용하고 있다.^{14,21,22)} 또한 生後 4~12個月의 肉牛 및 乳牛에 브루셀라병 減量 백신을 接種하며 이 경우 抗體價가 20個月까지 持續하므로 豫防接種牛는 生後 20個月 以上에서, 非豫防接種牛는 本病 檢索時 陰性을 원칙으로 삼고있다.¹⁶⁾

브루셀라병 檢索에 있어 公認된 試驗法으로 CFT를 비롯하여 STT, SPT, Card test,¹⁴⁾ Rose Bengal plate test (RBPT)¹³⁾와 乳牛群別 檢索 方法으로 milk ring test^{4,28)}를 보편적으로 사용하고 있으며, 補助診斷法으로는 Rivanol test (RT)와 2-mercaptoethanol test가 應用되고 있다.²²⁾ 그러나 이러한 試驗法들도 非特異 反應이^{12,15)} 問題가 되므로 저자 등은 CFT를 비롯하여 SPT, STT, agar gel precipitation test (AGP), Counter immunoelectrophoresis (CIEP)와 補助診斷法인 Rivanol 試驗法을 서로 比較하여 本病 檢索의 基礎資料를 얻고져 하였다.

材料 및 方法

供試血清: ① 野外에서 STT에 依하여 陽性으로 判定된 소 血清(38 예), ② 肉牛 및 乳牛 血清(222 예).

供試抗原: ① SPT 抗原과 STT抗原은 美國農務省 方法²¹⁾에 準하여 家畜衛生研究所에서 製造한 것이며 Rivanol 試藥 및 抗原은 美國農務省 製品이다. ② brucella sonicated antigen은 *Brucella abortus* 19號毒菌株을 감자한천배지에서 72시간 培養한 후 이 菌液을 細胞破壞器로 壓縮破壞시키 만든 抗原이며 AGP 및 CIEP 試驗에 供시하였다.

試驗方法: ① SPT, STT 및 RT는 美國農務省 方法에 準하였으며, CFT는 英國 Weybridge²³⁾ 方法에 準하여 실시하였다. ② AGP 및 CIEP 試驗은 英國 Weybridge 方法에 準하였다.

結 果

1. 브루셀라병 檢索時 STT에 依하여 陽性으로 判定된 소의 SPT와 STT의 結果比較: 野外에서 브루셀라병 檢索에 사용되는 SPT와 STT의 反應成績을 比較한 것은 Table 1과 같다.

총 檢索頭數 260頭中 STT와 SPT 一致率은 82.6% (215頭)였으며, SPT에서 陽性 또는 疑陽性인 個體가 STT에서 陰轉되는 경우는 15.4%(40頭)였다. 또한 SPT에서 陰性 내지 疑陽性이 STT에서 陽轉하는 경우는 1.6%(4頭)였다.

2. 野外에서 STT에 依하여 브루셀라病 陽性으로 判定된 소의 抗體力價分布: STT에 依하여 브루셀라病 陽性牛로 判定된 소의 抗體力價 分布는 100배가 21.8%, 200배가 15.7%, 400배가 21.8%, 800배가 18.9% 그리고 1,600배 이상이 21.8%로서 STT 力價 200배 이상이 전체의 78.2%를 나타내었다(Fig. 1).

3. 브루셀라 感染牛의 STT力價와 Rivanol力價의 比較: 野外 檢索에서 陽性으로 判定된 소의 STT 力價와

Table 1. Comparison of Standard Plate Agglutination Test (SPT) and Standard Tube Agglutination Test (STT) for the Diagnosis of *Brucella abortus* Infection

SPT	STT	No. of cattle	Percent
Negative	Negative	172	66.1
Negative	Positive	2	0.8
Suspect	Negative	32	12.3
Suspect	Positive	2	0.8
Positive	Negative	8	3.1
Positive	Suspect	1	0.4
Positive	Positive	43	16.5
Total		260	100.0

Rivanol力價를 서로 比較하였던 바 그 成績은 Fig. 2와 같다.

STT 力價가 100인 7頭중 5頭가 RT로는 陰性을 나타내었고 나머지 2頭는 RT 力價가 各各 25 및 50倍였다. STT 力價가 200배이상인 경우 RT에서는 모두 陽性反應을 보였으며 STT의 血清力價가 높을 수록 RT의 力價도 比例하여 높은 경향을 나타내었다.

4. 브루셀라 陽性牛의 STT 力價와 CFT 力價의 比較: STT와 CFT와의 診斷上의 一致率을 알기 위하여 野外 檢索에서 陽性으로 判定된 소의 STT 力價와 CFT 力價를 比較한 結果는 Fig. 3과 같다.

STT 力價 100배인 7頭中 6頭가 CFT에서 陰性이었으며 나머지 1頭는 CFT 力價 10배를 나타내었다. 그리고 STT 力價가 200배이상인 경우는 CFT에서 모두 陽性反應을 부였고, STT의 力價가 높을수록 CFT 力價도 比例하여 높은 경향을 보였다.

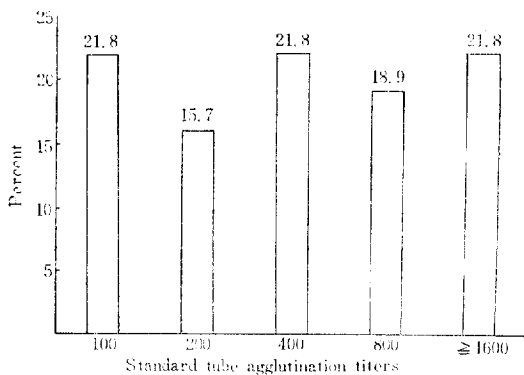


Fig. 1. Distribution of tube agglutination titers of sera from brucella positive reactors.

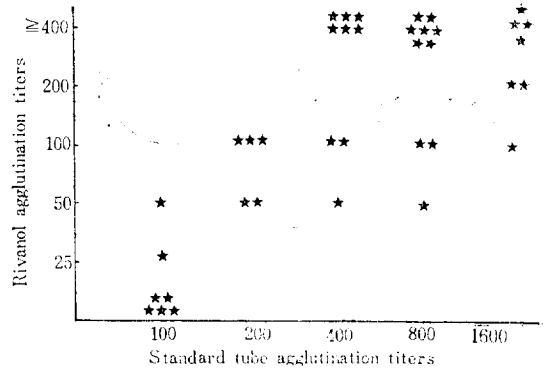


Fig. 2. Comparison of standard tube agglutination test and Rivanol test for the diagnosis of bovine brucellosis.

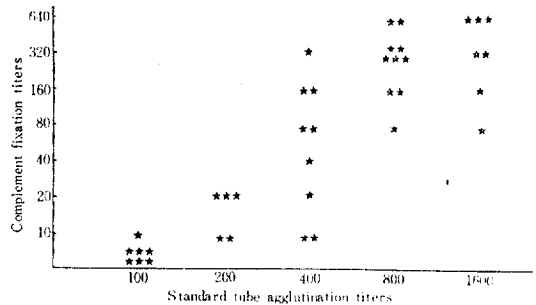


Fig. 3. Comparison of standard tube agglutination test and complement fixation test for the diagnosis of bovine brucellosis.

5. STT로 陰性判定된 소의 RT 力價와 CFT 力價의 比較: RT와 CFT의 상호 一致率을 알기 위하여 부루세라病 陽性인 소의 RT 力價와 CFT 力價를 比較한 結果는 Fig. 4와 같다.

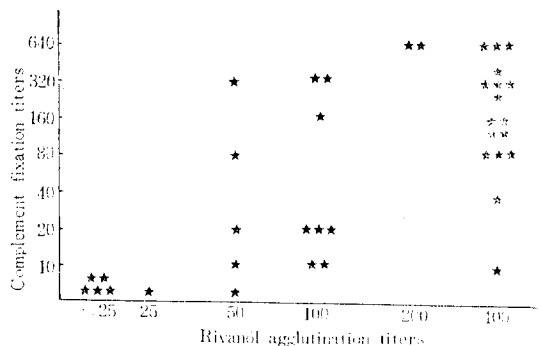


Fig. 4. Comparison of Rivanol test and complement fixation test for the diagnosis of bovine brucellosis.

RT力價가 25배로 陽性 判定된 소 1頭가 CFT에서 陰性反應을 나타내었으며 RT力價가 50배 以上인 소는 CFT에서도 모두 陽性으로 反應하였다. 또한 RT에서 陰性인 個體는 모두 CFT에서도 陰性이었다. 그리고 RT의 力價가 높을 수록 CFT力價도 比例하여 높았다.

6. AGP 및 CIEP의 브루셀라病 診斷效率 檢討: 브루셀라病 檢索에 있어 AGP와 CIEP의 特異性 및 感受性 그리고 STT와의 診斷上의 一致率을 측정하기 위하여 위의 3가지 시험법을 서로 比較하여 본 結果는 Table 2에서와 같다.

STT力價가 200배이하인 個體는 AGP 및 CIEP에서 모두 陰性反應을 보였으며 STT 力價 400배인 7頭中 AGP 및 CIEP에서는 各各 1頭만이 陽性反應을 나타내었다. 그리고 STT力價가 800배 이상인 경우 AGP로는 모두 陽性反應을 보였다. 반면에 CIEP에서는 STT力價 800배인 6頭中 4頭가, STT力價 1600배인 7頭中 5頭가 陽性反應을 나타내었다.

考 察

브루셀라病 診斷에 使用되고 있는 STT와 SPT는 血清의 IgG 및 IgM型의 特異 抗體를 檢出할 수 있는 方法으로 Elberg⁷⁾에 依하면 브루셀라病에 感染된 소의 血中에는 大部分 IgG抗體가 常存하나 백신 接種牛에서는 초기에 IgG와 IgM 抗體가 血中에 共存하며 時日이 경과함에 따라 IgG 抗體는 급속히 소실하는 반면 IgM 抗體는 약 20—24個月까지 잔여한다고 報告하였다. 또한 Allan 등¹⁾은 血清凝集反應時 IgG₁이나 IgG₂ 抗體가 血清 ml當 100μg이 있어야 陽性反應을 나타낼 수 있다고 報告하였다. 現在 우리나라에서 브루셀라病의 公認된 診斷法인 SPT와 STT만을 使用할 경우 IgM 抗體에 基因한 非特異反應이 문제가 된다.

1次檢索 및 2次檢索에 利用되고 있는 SPT와 STT의 一致率을 살펴보면 총 260頭中 81.6가 서로 一致하였고, SPT에서 陽性 또는 疑陽性牛가 STT로 檢査時 15.4%가 陰轉하는 반면에 SPT에서 陰性 및 疑陽性牛가 STT에서 陽轉하는 경우는 1.6%를 나타내었다.

브루셀라病 檢査시 1次에서 疑陽性 반응우가 2次檢索時 55%가 陽轉하였고, 疑陽性우 25.3%는 2次檢索時 變化가 없었다는 보고²⁶⁾는 저자들의 成績과는 차이가 있으며 이는 地域, 個體 그리고 조사 두수 등의 差異에 基因한다고 사료된다.

브루셀라 豫防接種後 오랜 時日이 경과하거나, 感染 初期에는 比較的 단일일이지만 IgM 抗體가 IgG 抗體보다 많으므로 SPT나 STT에 의하여 檢出된 브루셀라抗

Table. 2. Sensitivity of Agar Gel Precipitation Test (AGP) and Counter Immunoelectrophoresis (CIEP) for the Diagnosis of Bovine Brucellosis

Standard tube agglutination test		AGP	CIEP
Titers	No. of cattle	No. of positive(%)	No. of positive(%)
100	7	0(0)	0(0)
200	5	0(0)	0(0)
400	7	1(14.3)	1(14.3)
800	6	6(100)	4(66.7)
1,600	7	7(100)	5(71.4)
Total	32	14(43.8)	10(31.3)

體가 感染 또는 豫防接種에 의한 抗體價인저 區別하기가 용이하지 않다.³⁾ Rivanol 試藥은 血清中の IgM 抗體를 破壞시켜 IgG 抗體만을 檢出하는 方法으로 美國을 비롯한 여러나라에서는 이를 本病의 補助診斷法으로 使用하고 있다. 저자 등은 STT와 RT의 診斷의 一致率을 보기 위하여 두 檢査法의 力價를 서로 比較하였던 바 STT力價 200배 이상인 경우 RT力價는 50배 以上으로 모두 陽性反應을 나타내었다. 그러나 STT力價 100배인 경우 7두중 RT에서는 5頭가 陰性反應을 보인 것으로 미루어 STT力價 100배인 個體를 모두 陰性으로 判定하기엔 問題點이 있으므로 補助診斷法을 병행하여 사용함이 바람직하다고 사료된다.

CFT는 특이성 및 감수성이 STT보다 높은 診斷法¹⁰⁾으로 公認되어 있으며 Chappel 등^{5,6)}은 CFT에서 陰性인 血清도 SAT로는 50~200IU/ml의 反應을 보일 수 있다 하였다. 또한 CFT는 브루셀라病에 감염되었을 경우 SAT보다 陽性判定率이 높다 하였으며, 血清中の IgG₁ 및 IgM 抗體는 檢出할 수 있으나 IgG₂ 抗體는 檢出할 수 없고, IgM 抗體는 加熱 또는 不活化시키면 쉽게 破壞된다 하였다.^{8,11)} 브루셀라 陽性牛의 STT血清力價와 CFT力價를 比較하여 본 結果 約 84.2%의 一致率을 나타내었다.

STT로 陽性判定된 소의 RT力價와 CFT力價를 比較한 結果 97.4%의 一致率을 보였다. 그러므로 RT와 CFT는 우리나라의 브루셀라病 檢索에 最終 診斷法으로 법제화할 필요성이 있다고 사료된다.

Waghela 등²⁰⁾은 山羊의 브루셀라 陽性血清을 CFT, AGP 및 RBPT 등과 比較하였던 바 AGP가 가장 特異성이 높았으며 STT는 特異성이 가장 낮았음을 報告하

고山羊의 브루셀라病 診斷法으로는 AGP 또는 RBP T가 좋은 試驗法이라 하였다. 저자 등은 STT에 의한 브루셀라病 陽性判定牛를 대상으로 AGP 및 CIEP 結果를 STT와 比較하였던 바 一致率이 AGP는 43.8%, CIEP는 31.3%로서 特異성은 높으나 感受성이 낮은 것으로 나타났다.

現在 우리나라에서 公認된 브루셀라病 診斷法인 SPT나 STT는 感受성은 높으나 特異성이 낮고, AGP나 CIEP는 特異성은 상당히 높지만, 감수성이 낮은 것으로 사료된다. 그러므로 MRT, SPT와 STT를 screening test로 사용하고 最終 判定試驗으로 CFT와 補助診斷法인 RT를 병용하여 실시하던 브루셀라病 근절에 더욱 効果의 일 것으로 사료된다.

結 論

브루셀라病 檢索에 사용되는 여러가지 血清診斷法을 比較 檢討하기 위하여 STT에서 陽性判定된 38頭의 乳牛血清과 野外에서 채취한 222頭의 肉牛 및 乳牛血清을 試驗目的에 따라 SPT, STT RT, CFT, AGP 및 CIEP 로 檢査한 바 그 成績은 다음과 같다.

1. 野外에서 브루셀라病 檢索時 SPT에서 疑陽性 또는 陽性으로 判定된 個體가 STT에서 陰轉하는 경우는 15.4%였으나 SPT에서 陰性 또는 疑陽性牛가 STT에서 陽轉하는 경우는 1.6%였다.

2. STT에 依하여 브루셀라病 陽性으로 判定된 個體들의 血清力價分布는 100배가 21.8%, 200배가 15.7%, 400배가 21.8%, 800배가 18.9% 그리고 1,600배가 21.8%로 나타났다.

3. STT에서 陽性 判定된 소의 血清을 RT 및 CFT 로 檢査한 바 各 13.2%, 15.8%의 陰性反應을 나타내어 브루셀라病 診斷에 있어 STT와의 一致率은 RT가 86.8%, CFT가 84.2%였다.

4. STT로 陽性判定된 소의 血清에 대한 RT 및 CFT 의 診斷上의 一致率은 97.4%였다.

5. STT로 陽性判定된 소의 血清中 AGP로는 43.8%, CIEP로는 31.3%를 陽性으로 診斷할 수 있었다.

參 考 文 獻

1. Allan, G.S., Chappel, R.J., Williamson, P. and McNaught, D.J.: A quantitative comparison of the sensitivity of serological tests for bovine brucellosis to different antibody classes. J. Hyg. (1976) 76 : 287.
2. Alton, G.G., Maw, J., Rogerson, B.A. and

- McPherson, G.G.: The serological diagnosis of bovine brucellosis: an evaluation of the complement fixation, serum agglutination test and Rose Bengal tests. Australian Veterinary Journal (1975) 51 : 57.
3. Beh, K.J.: Quantative distribution of brucella antibody among immunoglobulin classes in vaccinated and infected cattle. Res. Vet. Sci. (1974) 17 : 1.
4. Cameron, H.S.: A comparison of blood and whey brucellosis tests on 20,000 cows. J. A. V. M. A. (1957) 1 : 130.
5. Chappel, R.J., McNaught, D.J., Bourke, J.A. and Allan, G.S.: Comparison of the results of some serological tests for bovine brucellosis. J. Hyg. Camb. (1978) 80 : 365.
6. Chappel, R.J., McNaught, D.J., Bourke, J.A. and Allan, G.S.: The diagnostic efficiency of some serological tests for bovine brucellosis. J. Hyg. Camb. (1978) 80 : 373.
7. Elberg, S.S.: Immunity to brucella infection. Medicine Baltimore (1973) 52 : 339.
8. George, J. P.: Animal brucellosis in peninsular malaysia. Bull. of FAO 23, (1979).
9. Hashimoto, H.: Diagnosis of Brucellosis. Bull. of FAO 1, (1979).
10. Lambert, G. and Amerault: Comparative study of three serological tests for detecting the response in cattle to virulent *Brucella abortus*. Am. J. Vet. Res. (1962) 23 : 529.
11. McNaught, D.J., Chappel, R.J., Allan, G.S., Bourke, J.A. and Rogerson, B.A.: The effects of IgG₂ and of antigen concentration on zoning in the complement fixation test for bovine brucellosis. Res. Vet. Sci. (1977) 22 : 194.
12. Mittal, K.R. and Tizard, J.R.: Experimental studies on the serological relationships between *Yersinia enterocolitica* and *Brucella abortus*. Res. Vet. Sci. (1979) 27 : 354.
13. Morgan, W.J.B., Mackinnon, D.J. and Cullen, G.A.: The Rose Bengal plate agglutination test in the diagnosis of brucellosis. Vet. Rec. (1969) 85 : 636.
14. Nicoletti, P.: Utilization of the card test in brucellosis eradication. J. A. V. M. A. (1967)

- 151 : 1778.
15. Nicoletti, P. and Holmes, J. : Attempts to produce cross-reactions for brucella in cattle treated with hemorrhagic septicemia bacterins. *The cornell veterinarian* (1967) 58 : 421.
 16. Nicoletti, P., Jones, L.M. and Berman, D.T. : Adult vaccination with standard and reduced doses of *Brucella abortus* strain 19 vaccine in a dairy herd infected with brucellosis. *J. A. V. M. A.* (1978) 173 : 1445.
 17. pipithkul, S. : Brucellosis in Thailand. *Bull. of FAO* 24, (1979).
 18. Spink, W.W. : Present status of brucellosis in man: clinical and diagnostic problems. *J. A. V. M. A.* (1969) 155 : 2091.
 19. Hendricks, S.L. and McYer, M.E. : Brucellosis, Disease transmitted from animals to man.
 20. Waghela, S., Wandera, J.G. and Wagner, G. G. : Comparison of four serological tests in the diagnosis of caprine brucellosis. *Res. Vet. Sci.* (1980) 28 : 168.
 21. Standard agglutination test procedures for the diagnosis of brucellosis and the production of *Brucella abortus* standard agglutination test antigen. United States Departments of Agriculture. NADL Diagnostic Service, Iowa (1980).
 22. Brucellosis eradication: Uniform methods and Rules. Effective September 1979. U.S. Departments of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Iowa (1981).
 23. Brucellosis Diagnosis Standard Laboratory Techniques. Central Veterinary Laboratory, New Haw, Weybridge, 2nd ed. (1978).
 24. Diagnostic procedures for non-smooth *Brucella* strains. Central Veterinary Laboratory, New Haw, Weybridge, (1979).
 25. 金斗熙, 丁丙鐸, 文載鳳 : 브루셀라 感染韓牛에 대한 血清學的 研究. *농사시험연구보고*(1968) 11 : 5.
 26. 金丙九, 宋炳均, 李澤桂 : Brucellosis에 關한 研究. 第二報 家畜 Brucellosis에 對한 免疫學的 調查報告. *家畜衛生研究所報*(1959) 6 : 9.
 27. 朴鳳祚, 河敏植 : *Brucella* 病에 關한 研究. 導入乳牛 및 韓牛의 브루셀라 凝集力價의 動搖에 對하여. *농사시험연구보고*(1963) 3 : 95.
 28. 丁炳鐸 : 乳牛 브루셀라病 診斷을 위한 milk ring test의 이용가치. *대한수의학회지*(1969) 9 : 2.

Comaprison of Six Serological Methods for the Diagnosis of Bovine Brucellosis

Keum-Hwa Kim, D. V. M., M. S., Soo-Hwan An, D. V. M., M. S., Ph. D.,
Yong-Ho Park, D. V. M., M. S. and Dong-Sung Kim, D. V. M., M. S., Ph. D.

Institute of Veterinary Research

Abstract

Results obtained from six serological tests for diagnosing bovine brucellosis—standard plate agglutination test (SPT), standard tube agglutination test (STT), complement fixation test (CFT), Rivanol test (RT), agar gel precipitation test (AGP) and counterimmunoelectrophoresis (CIEP) were compared using 38 sera from brucella reactors and 222 sera from dairy and beef cattle in field.

The SPT gave 1.6% apparent false negative reactions and 15.4% apparent false positive reactions when compared with STT which is an official test for bovine brucellosis in this country.

The distribution of antibody titers determined by STT showed that 37.5% of 38 reactors had antibody titers ranging from 100 to 200, and the remaining 62.5% had antibody titers of 400 or higher.

When 38 reactors judged by STT were tested by CFT and RT, 32 cattle (82.4%) were positive by CFT and 33 cattle (86.8%) were positive by RT, respectively. This results suggest that RT is comparable to CFT in the diagnosis of bovine brucellosis.

The results also indicated that both AGP and CIEP were insensitive to detect brucella infection in cattle.