

경북지역의 부루셀라병에 관한 연구

박노찬, 김상윤, 조광현, 도재철, 김영환, 신상희, 조민희,
오강희, 김우현, 김정화, 정종식, 김수웅, 김봉환*

경북가축위생시험소, 경북대학교 수의과대학*

Studies on the brucellosis in Kyongbuk area

No-Chan Park, Sang-Youn Kim, Kwang-Hyun Cho, Jae-Cheul Do,
Young-Hoan Kim, Sang-Hee Shin, Min-Hee Cho, Kang-Hee Oh,
Woo-Hyun Kim, Jeong-Hwa Kim, Jong-Sik Jyeong, Soo-Woong Kim, Bong-Hwan Kim*

*Kyongbuk Veterinary Service Laboratory
College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University**

Abstract

The present study was carried out to investigate the prevalence of brucellosis in Kyungbuk area for the 3 years from 1966 to 1998. Collective milk samples were routinely screened to detect positive farms by using the milk ring test(MRT), and serum agglutination test was performed to detect sero-positive individuals in the MRT positive farms. Attempt were made to isolate the causative organisms from slaughtered sero-positive reactors and some biochemical and polymerase chain reaction characters of the isolates were also made to identify the organisms. Seroprevalence to brucellosis in peoples who are close contact with infected dairy herds was also investigated.

Brucellosis of dairy cattle was rare before 1997, but has been broken more frequently since early 1998.

By the MRT for dairy herds, positive rate was gradually increased every year : 0.6% in 1996, 1.5% in 1997, 3.9% in 1998. Among 262 MRT-positive herds, only 21 herds(8.0%) showed positive brucellosis in serological test.

The isolation rates of *Brucella* sp from tested materials were 51.2% in supramammary glands, 39.5% in milks, and 50.0% in pulmonary lymphnode, respectively.

Isolated strain and biotype were *Brucella(B) abortus* biotype 1 in 26 heads, and were *B*

suis biotype 1 in 2 heads. Isolated strain and vaccine strain were very similar in their colony morphology and staining.

In drug susceptibility, isolated strains (*B abortus*) and vaccine strain (*B abortus RB-51*) were sensitive to ampicillin, gentamycin, kanamycin, neomycin, penicillin, streptomycin, and tetracycline, but resistant to erythromycin.

In the PCR, field strains reacted to BA and IS711 primers, and vaccine strain reacted to BA, IS711, and RB51 primers.

In the plate agglutination test of 96 sera of human contacted with animals, serum antibody titer detected 1 : 100 in one person, 1 : 200 in one, and below 1 : 25 in the others.

Key words : Brucella prevalence, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, Antibiotic susceptibility, MRT, PCR

서 론

부루셀라병은 소, 돼지, 양, 말, 개 등 여러 동물에 발병하여 많은 경제적 손실을 초래하는 가축 법정전염병임과 동시에, 이들 감염동물과 접촉이 빈번한 직업인에서 피부상처나 오염공기의 흡입 또는 오염식품의 섭취에 의해서 전파되는 인수공통전염병이다¹⁾.

Bruce는 말타열(Malta fever)로 사망한 사람의 비장에서 *Brucella(B) melitensis*를, Bang은 소의 유산태아에서 *B abortus*를, Traum은 유산된 돼지 태아에서 *B suis*를 각각 분리하였다. 그 후 Mac-Farlane 등은 유산 및 부고환염 등의 증상을 보이는 면양으로 부터 *B ovis*를, Stoenner와 Lackman은 Dessert Wood Rat에서 *B neotomae*를, Carmichael과 Kenney는 개의 유산 태아에서 *B canis*를 분리하였다¹⁻⁴⁾.

소에서의 부루셀라병은 잠복기가 긴 만성 전염병으로서 전세계적 발생 경향을 보이며, 주로 생식기관에 침입하여 임신하지 않은 암소에서는 무증상으로 내과하지만 임신한 소에서는 유산, 불임등의 번식장애와 유량감소 등을 야기하고, 수소에서는 고환염, 부고환염 등 생식기질환을 일으킨다¹⁾.

사람에서의 부루셀라병은 생식기관뿐만 아니라 인체 여러 기관에 침입하여 불현성, 급성, 아급성, 만성, 또는 재발성 등 여러 병형으로

증상이 발현되며, 불현성은 주증상이 전혀 나타나지 않는 것이 특징이다⁵⁾. 급성 또는 아급성형은 수주에서 수개월의 잠복기를 거쳐 발열과 함께 간비종, 임파선증, 백혈구 감소증 등을 보이는 경우가 허다하다. 만성인 경우 특징적 임상증상은 나타나지 않으나 두통, 피로, 불면증, 불안 등을 보이며 간헐적으로 발열증을 동반하기도 한다. 또한 이 균은 세포내기생성이기 때문에 항생제 치료시에는 증상이 일시적으로 완화되지만 대개 항생제 처치 후 2-3개월 또는 2년 후에도 재발하여 만성 경과를 취하는 경우가 많다.

*Brucella*속 균은 그람음성 비운동성의 작은 간균으로 배양성, 생화학적 및 혈청학적 성상의 차이에 따라 6군종으로 세분되며, 이들 군종 내에는 수 개의 균형이 있어 야외에서 분리된 *brucella*속 균에 대한 군종과 균형의 결정은 이 병의 역학적 연구수단에 크게 도움이 되고 있다. 또한 이들 균주들은 숙주 특이성이 있어 동물별 병원성 차이가 인정되고 있으나 서로 교차 감염되기도 한다. 소의 부루셀라병은 주로 *B abortus*에 의해 발병되지만 이 균 외에 *B suis*, 또는 *B melitensis*에 의해서도 감염됨을 알 수 있으며, 사람의 부루셀라증에서도 *B melitensis*, *B abortus*, *B canis*, *B suis* 등에 의해서도 감염됨이 밝혀졌다^{1,2,3,5)}.

사람에서 부루셀라병 진단은 감염균 확인이

가장 정확한 방법이지만, 원인균 분리자체가 쉽지 않고, 특히 만성 및 불현성 감염인 경우에는 원인 세균분리가 거의 불가능함은 물론 특징적인 임상증상을 보이지 않기 때문에 보통 혈청학적 검사와 역학적 조사 등 간접적인 진단법을 이용하고 있다. 마찬가지로 소에서도 부루셀라병에 감염되었을 경우 불임이나 유산 외에는 외형상 뚜렷한 증상을 보이지 않기 때문에 실험실내 혈청학적 검사로서 이 병의 감염유무를 확인하곤 한다. 이외에도 소 부루셀라병에 대한 진단법으로 혈청, 우유 등을 이용하는 진단법⁶⁾과 질점액을 이용하는 card test, enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)법⁷⁾ 등이 연구 개발되어 있다.

국내에서 부루셀라병은 모든 젖소를 대상으로 결핵검사와 함께 매년 정기검진을 실시, 이환우는 막대한 경제적 손실을 감수하면서 도태시킴으로서 이 질병의 확산을 방지하고 궁극적으로는 이 병의 근절을 도모코자 노력하고 있는 실정이다. 이에 이용되는 혈청학적 진단법에는 평판 응집반응(plate agglutination test), 시험관 응집반응(tube agglutination test), rose bengal test, milk ring test(MRT), Coombs test, 보체결합반응(complement fixation test) 등이 활용되고 있으나, 통상적으로 착유 목장별 집합우유를 이용하여 MRT 방법에 의해 감염된 우군을 일차 검색한 후 평판 응집반응과 시험관 응집반응법으로 감염된 개체를 확정하는 것을 공인된 진단법으로 활용하고 있으며, 제주도 등의 상재지역에서는 보체결합반응, rose bengal test, ELISA법이 추가 활용되고 있다^{8,9)}.

그러나 이와같이 여러 혈청학적 집단법들이 개발되어 사용되고 있으나 아직 단일 진단법으로 완벽한 방법이 개발되지 않고 있어 국가마다 2종 이상의 진단법을 병행하고 있는 실정이다^{10,11)}. 혈청학적 진단법은 비특이적인 반응이 많고, 잠복기중에 있거나 만성형인 경우에는 검출하지 못하는 단점이 있으며^{4,12,13)}, 특히 수소의 경우에는 단지 고환이나 부고환의 국소감염만을 일으키므로 눈에 띄는 증상이 없으며, 또한 우유도 분비하지 않아 MRT 검색에서도 배제되고 있어 이로 인한 우군내 감염

원이 되고있다.

최근에는 혈청을 이용한 진단법외에 우유, 실질장기 및 정액 등 다양한 가검체에서 세균을 직접 검출할 수 있는 방법, 즉 민감도와 특이성이 높은 분자유전학적 방법으로 병원체에 대한 특이 유전자를 증폭시켜 임상가검물내의 극히 미량까지도 검출할 수 있는 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction : PCR) 기법이 조기진단법으로 이용되고 있다^{14,15)}.

한편, 국내에서 동물의 부루셀라병에 관한 보고는 박과 이¹⁶⁾가 1956년 안양축종장에서 발생한 소의 유산증에서 유산태아로부터 *B abortus*를, 박¹⁷⁾은 1958년 중앙축산시험장에서 발생한 돼지 유산증에서 *B suis*를 분리한 바 있다. 그후 소의 부루셀라병에 관한 연구로서 박과 하¹⁸⁾가 1963년 부루셀라병에 관한 연구, 정¹⁹⁾이 1969년 유우 부루셀라병 진단을 위한 MRT의 이용가치, 김 등²⁰⁾이 1982년 부루셀라 검색에 사용되는 여러 가지 혈청진단법의 비교연구, 우와 서²¹⁾가 1986년 유우로부터 *B abortus*의 분리와 분리균의 성상, 정 등²²⁾이 1988년 젖소로부터 *B abortus*의 분리 및 균형별, 정 등²³⁾이 1998년 정액중 brucella균의 신속검출을 위한 PCR 기법 개발 등이 보고되어 있다. 그러나 사람에서의 brucella 감염에 관한 연구는 손 등²⁴⁾이 1986년 목장 종사자, 유가공업 종사자 및 수의사 등 425명의 혈청을 이용한 응집반응과 면역반응의 보고가 있을 따름이다.

따라서 이 연구에서는 경북지역에서의 소 부루셀라병의 발생추이와 MRT 결과 등을 비교 분석하고, brucella 감염우에서 원인균의 분리 및 균형 동정을 실시함과 아울러 동물과 접촉이 빈번한 직업인을 대상으로 이 병의 감염상황 등을 조사하여 향후 가축에서 이 병의 근절과 공중보건학적 기초자료로 활용코자 하였다.

재료 및 방법

1. 대상 목장 및 가검물 채취

경북지역내 착유목장의 젖소를 대상으로 부루셀라 감염실태를 파악하고자 1996년부터 1998년까지 3년 동안 년 3~5회씩 집합우유를

수거하여 가축위생시험소에서 MRT를 실시하였다. 반응 양성으로 판정된 목장에 대해서는 착유하는 전두수를 대상으로 개체별 혈청을 이용한 평판 및 시험관 응집반응법을 적용하여 brucella 감염 양성우를 검색하였다. 응집반응 결과 양성우로 판정된 경우에는 살처분함과 동시에 각종 장기에서 brucella균 분리재료를 채취하였다.

한편, 사람에서의 감염 유무를 확인할 목적으로 가축위생시험소 근무 수의사, 공개업 수의사 및 목장 관리인을 대상으로 혈액을 채취하여 brucella 평판 응집반응을 실시하였다.

2. MRT

MRT의 항원은 *Brucella abortus* 1119-3균의 사균을 hematoxilin으로 염색하여 0.5% 석탄산가 생리식염수를 가한 균 부유액을^{4,10)}, 우유는 착유목장의 집유탱크에서 적당량 시험관에 수거하여 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다. 반응은 항원과 가검우유를 실온에 45~60분 정도 방치한 후 진단액 0.03ml와 우유 1ml를 시험관에 혼합하여 37.5°C에서 45~60분 감작한 후 크림층이 청색이고 하층이 약청에서 백색을 띄는 것을 양성으로 판정하였다.

3. 평판 응집반응

평판 응집반응은 USDA 방법에 따라 실시하였다^{4,10,11)}. 항원은 *B abortus* 1119-3 배양액을 석탄산가 생리식염수로 희석하여 cryotsl violet과 brilliant green으로 염색한 균부유액을, 혈청은 56°C 30분간 비동화하여 사용하였다. 반응은 진단액 0.3ml에 가검혈청 0.08ml, 0.04ml, 0.02ml, 0.01ml를 각각 분주하여 혼합한 후 8분내에 응집하는 것을 그 배수로 판정하였다. 희석배수 1 : 25 이하에서 응집한 경우에는 음성으로, 1 : 50에서는 의양성, 1 : 100 이상에서는 양성으로 각각 판정하였다.

4. 시험관 응집반응

시험관 응집반응은 USDA 방법에 따라 실시하였다^{4,10,11)}. 항원은 *B abortus* 1119-3 배양액을

0.5% 석탄산가 생리식염수로 1 : 100으로 희석한 균부유액을, 혈청은 비동화한 것을 각각 사용하였다. 반응은 진단액 2ml에 검사혈청 0.08ml, 0.04ml, 0.02ml, 0.01ml, 0.005ml를 각각 분주하여 혼합한 후 37.5°C에서 48시간 동안 감작하여 응집유무로 그 배수를 판정하였다.

5. Brucella 균 분리동정

부루셀라 양성우를 살처분하면서 채취한 우유, 상유방 임파절, 폐 등의 장기를 균 분리재료로 사용하였다. 재료를 bacitracin 25ug/ml, polymycin B 5ug/ml, nalidixic acid 5ug/ml, vancomycin 20ug/ml 및 cycloheximide 100ug/ml을 함유한 serum dextrose agar 평판배지 2매에 각각 도말하고, CO₂ 10% 분압하의 37°C에서 3~5일간 배양한 다음, 투명하고 smooth한 원형의 집락(직경 약 2~4mm)를 분리하였다. 분리균은 Gram염색하여 음성의 간구균을 확인하였고, urease, CO₂ 요구성, H₂S 산생, 용혈성, MacConkey agar에서의 발육능 등의 생화학적 성상을 확인하여 brucella균 속을 동정하였다^{2,10)}.

*Brucella*균 종의 생물형은 CO₂ 요구성, H₂S 생성능, thionine 및 basic fuchsin 함유 배지에서의 성장능, monospecific 항혈청 A, M 및 R의 응집능 등으로 균형을 결정하였다^{2,10)}.

6. 항생제 감수성 검사

분리한 brucella 균주와 예방백신균주에 대한 각종 항생제의 감수성 검사는 disk법으로 실시하였으며, 항생제로는 ampicillin(10ug), cephalothin(30ug), colistin(10ug), erythromycin(15ug), gentamicin(120ug), kanamycin(30ug), neomycin(30ug), penicillin(10unit), streptomycin(300ug), tetracycline(30ug) 등 10종을 사용하였다.

7. 중합효소연쇄반응(PCR)

PCR은 50mM KCL, 10mM Tris, 1.5mM MgCl₂, primers(forward and reverse) 각 100 mM, deoxynucleotide triphosphates 200um,

Taq DNA polymerase 2.5 units 및 template DNA 약 10ng 함유된 reaction mixture 10ul 내에서 실시하였다. PCR은 GeneAmp PCR system(Perkin Elmer Co)으로 하였고, Taq DNA polymerase 2.5 unit를 가하기 전에 먼저 5분간 boiling한 다음 denaturation은 94°C에서 1분, primer annealing은 55°C에서 1분, DNA extension은 72°C에서 1분간 30회 반복하였으며, 최종 DNA extension은 72°C에서 5분간 실시하였다. PCR이 끝난 후 각 sample의 10ul를 ethidium bromide가 함유된 1.5% agarose gel에 10ul를 loading하여 100V, 1시간 동안 전기영동한 다음 자외선 조사하에서 DNA band를 확인하고 촬영하였다^{14,15)}.

PCR에 이용된 primer로는 BA, IS711, RB51의 3종류이며, 이들의 염기배열과 분자량은 Table 1과 같다.

Table 1. Nucleotide sequence of primers used in this study

Primer*	Nucleotide sequences (5'→3')	Product size(bp)
BA	GAC GAA CGG AAT TTT TCC AAT CCC	498
IS711	TGC CGA TCA CTT AAG GGC CTT CAT	498
RB51	CCC CGG AAG ATA TGC TTC GAT CG	364

* BA ; *Brucella abortus* specific primer.
IS711 ; Insertion sequence 711 specific primer.
RB51 ; *Brucella abortus* RB51 specific primer.

결 과

1. 경북지역의 부루셀라병 발생추이

1979년부터 1998년까지 경북지역내 젖소 부루셀라병의 발생추이는 Fig 1과 같다. 1979년부터 1983년까지는 발생이 없었으나, 1984년부터 1986 까지는 해마다 8~13두씩 검색되었다.

그후 1987년부터 1989년까지는 거의 검색되지 않았으나 1990년에 4개 목장 8두에서 다시 확인된 이후 1991년부터 1994년까지는 거의 발생되지 않았다. 그러나 1995년부터 1997년까지 매년 3~6개 목장에서 4~9두씩 산발적으로 확인된 이후 1998년에는 15목장(101두)에서 폭발적으로 발생되었다.



■ No of farms occurred brucellosis
▨ No of heads infected with brucellosis

Fig 1. Frequency of farms and heads infected with brucellosis in Kyongbuk area during from 1979 to 1998.

2. MRT에 의한 1996-1998 기간의 부루셀라병 검색률

부루셀라병 감염우균을 검색하기 위하여 경북지역내 검사기관 4곳에서 1996년에 각각 3~5회 수집한 착유목장별 집합우유에 대한 MRT 결과는 Table 2와 같다. 검사기관 A에서는 3회 1,409 목장 모두에서 음성, 검사기관 B에서는 4회 1,342 목장 중 11(0.8%)에서 양성, 검사기관 C에서는 4회 906 목장 중 16(1.8%)에서 양성, 검사기관 D에서는 5회 897 목장 중 2(0.2%)에서 양성으로 판정되어, 1996년의 검사대상 총 4,554 목장 중 29(0.6%)에서 양성우균이 검색되었다.

1997년에 실시한 MRT의 결과는 Table 3와 같다. 검사기관 A에서는 5회 2,148 목장 중 4(0.2%)에서, 검사기관 B에서는 3회 911목장 중 13(1.4%)에서, 검사기관 C에서는 5회 1,377목장 중 54(3.9%)에서, D 검사기관에서는 5회 836 목장 중 10(1.2%)에서 각각 MRT 양성이었다. 1997년 경북지역의 검사대상 총 5,272 목장 중 81(1.5%)에서 양성 우균이 검색되었다.

Table 2. Detection rate of Brucella infected farms by milk ring test during 1996

No of detection	Experimental station												Subtotal		
	A			B			C			D					
	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%
1	512	0	0	343	2	0.6	245	9	3.7	188	1	0.5	1,288	12	0.9
2	514	0	0	337	3	0.9	194	3	1.5	191	1	0.5	1,236	7	0.6
3	383	0	0	339	3	0.9	234	4	1.7	162	0	0	1,118	7	0.6
4	—	—	—	323	3	0.9	233	0	0	189	0	0	745	3	0.4
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	167	0	0	167	0	0
Total	1,409	0	0	1,342	11	0.8	906	16	1.8	897	2	0.2	4,554	29	0.6

Table 3. Detection rate of Brucella infected farms by milk ring test during 1997

No of detection	Experimental station												Subtotal		
	A			B			C			D					
	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%
1	411	1	0.2	318	5	1.6	261	31	11.9	190	0	0	1,180	37	3.1
2	450	3	0.7	301	5	1.7	261	6	2.3	188	1	0.5	1,200	15	1.3
3	388	0	0	292	3	1.0	299	9	3.0	185	6	3.2	1,164	18	1.5
4	410	0	0	—	—	—	281	3	1.1	273	3	1.1	964	6	0.6
5	489	0	0	—	—	—	275	5	1.8	—	—	—	764	5	0.7
Total	2,148	4	0.2	911	13	1.4	1,377	54	3.9	836	10	1.2	5,272	81	1.5

1998년에 실시한 MRT 결과는 Table 4와 같이 검사기관 A에서는 3회 1,080 목장 중 9(0.8%)에서, 검사기관 B에서는 3회 813 목장 중 21(2.6%)에서, 검사기관 C에서는 4회 1,214

목장 중 72(5.9%)에서, 검사기관 D에서는 5회 838 목장 중 50(6.0%)에서 각각 MRT 양성이었다. 따라서 1998년에 검사한 총 3,945 목장 중 152(3.9%)에서 양성율을 보였다.

Table 4. Detection rate of Brucella infected farms by milk ring test during 1998

No of detection	Experimental station												Subtotal		
	A			B			C			D					
	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%
1	383	5	1.3	274	4	1.5	314	8	2.5	172	4	2.3	1,143	21	1.8
2	357	2	0.6	270	10	3.7	312	6	1.9	170	8	4.7	1,109	26	2.3
3	340	2	0.6	269	7	2.6	290	34	11.7	165	12	7.3	1,064	55	5.2
4	—	—	—	—	—	—	298	24	8.1	167	15	9.0	465	39	8.6
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	164	11	6.7	164	11	6.7
Total	1,080	9	0.8	813	21	2.6	1,214	72	5.9	838	50	6.0	3,945	152	3.9

Table 5. Detection frequency of sero-positive rates from MRT-positive farms

Year	Experimental station												Subtotal		
	A			B			C			D					
	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%
'96	0	0	0	11	1	9.1	16	0	0	2	0	0	29	1	3.4
'97	4	1	25.0	13	1	7.7	54	4	7.4	10	0	0	81	6	7.4
'98	9	1	11.1	21	2	9.5	72	5	6.9	50	6	12.0	152	14	9.2
Total	13	2	15.4	45	4	8.9	142	9	6.3	62	6	9.7	262	21	8.0

3. MRT 양성목장 젖소의 개체별 혈청 평판 및 시험관 응집 양성률

1996년부터 1998년까지 3년 동안 MRT에서 양성반응을 보인 목장을 대상으로 개체별 *brucella* 평판 및 시험관 응집반응을 실시한 바, *brucella* 양성우를 보유한 목장의 검색빈도는 Table 5와 같다. 즉, 검사기관 A, B, C 및 D에서 MRT 양성 13목장 중 2(15.4%), 45목장 중 4(8.9%), 142 목장 중 9(6.3%) 및 62 목장 중 6(9.7%)에서 각각 양성우가 검색되어, 총 262 MRT 양성목장 중 21 목장(8.0%)에서 검색되었다.

4. 평판 및 시험관 응집양성 개체의 검체로부터 *brucella*속의 분리율

1998년도 경북지역내 *brucella* 양성우군 15 목장 중 4 목장에 대한 *brucella*속의 분리 상황은 Table 6과 같다. 4개 목장의 사육우 218 두 중 89두가 평판 및 시험관 응집반응에서 양성우로 판명되었다. 목장별 분리율은 A 목장에서는 27두 양성우 중 16두(59.3%)에서, B 목장에서는 18두 중 11두(61.1%)에서, C 목장에서는 2두 중 1두(50.0%)에서 각각 분리되었으나, D 목장의 2두에서는 분리되지 않았다. 전체적으로는 4개 목장 49두 중 3개 목장 27두에서 *brucella* 속균이 분리되어 55.1 %의 분리율을 나타내었다.

5. 림프절, 우유 및 폐문 림프절에서 *brucella*속의 분리율

Brucella 속균이 분리된 3개 목장의 검사재

료별 분리상황은 Table 7과 같다. 상유방 림프절에서는 43예 중 22(51.2%)에서, 우유에서는 38예 중 15(39.5%)에서, 폐문 림프절에서는 4예 중 2(50.0%)에서 각각 *brucella*균이 분리되었다. 따라서 총 85재료 중 39(45.9%)에서 *brucella*균을 분리하였다.

Table 6. Isolation ratio of *Brucella* species from sero-positive dairy cattle

Herd	No of heads reared	No of sero-positive	No of heads tested	No of isolates (%)
A	132	60	27	16(59.3)
B	40	25	18	11(61.1)
C	29	2	2	1(50.0)
D	17	2	2	0(0)
Total	218	89	49	27(55.1)

6. 분리균주의 생물형

개체별로 분리된 *brucella*속 균의 균종과 생물형은 Table 8과 같이 A 목장의 16두 유래 분리균 중 14두에서는 *B abortus* biovar 1이, 2두에서는 *B suis* biovar 1이, B 및 C 목장에서는 12두 전두수에서 *B abortus* biovar 1으로 확인되었다.

7. 분리균주의 집락형태 및 항생제 감수성

분리된 *B abortus* biovar 1과 *B suis* biovar 1 및 예방백신 균주인 *B abortus* RB-51의 배지에서의 집락형태와 염색성은 육안적으로 거의 동일하였다.

Table 7. Isolation rates of *Brucella* species from various tissues in sero-positive dairy cattle

Herd	Supramammary lymph node			Milk			Pulmonaey lymph node		
	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%	No of test	No of positive	%
	A	23	11*	47.8	21	9	42.9	4	2**
B	18	10	55.6	15	6	40.0			
C	2	1	50.0	2	0	0			
Total	43	22	51.2	38	15	39.5	4	2	50.0

* : Among 11 strains, only 1 strain is *Brucella suis*

** : Between 2 strains, 1 strain is *Brucella suis*

Table 8. Species and biotypes of *Brucella* isolated from dairy cattle in 3 herds

Herd	No of heads isolated	Species	Biotyping
1	16	14	<i>B abortus</i> biovar 1
		2	<i>B suis</i> biovar 1
2	11	11	<i>B abortus</i> biovar 1
3	1	1	<i>B abortus</i> biovar 1

이 실험에서 분리된 *B abortus* biovar 1과 예방백신 균주인 *B abortus* RB-51에 대한 항생제 감수 성시험 결과는 Table 9와 같이 ampicillin, gentamicin, kanamycin, neomycin, penicillin, streptomycin, tetracycline 등에는 감수성을, erythromycin에는 내성을 보였다. 그러나 cephalothin에는 분리균주는 감수성을, 백신균주는 내성을 보였고, colistin에는 분리균주는 내성이나 백신균주는 감수성이었다.

8. PCR에 의한 분리균주와 백신균주의 반응 특성

이 실험의 분리균주인 *B abortus* biovar 1과 예방백신 균주인 *B abortus* RB-51, *B abortus* 1119-3 및 *B abortus* N99에 대한 중합효소연쇄반응(PCR) 결과는 Fig 2와 같다.

야외 분리주인 *B abortus* biovar 1은 BA 및 IS711 primer에, 예방백신 균주인 *B abortus* RB-51는 BA, IS 및 RB51 primer에, *B abortus* 1119-3와 *B abortus* N 99는 BA 및 IS711 primer에 각각 반응하여 특정 primer에 대한 특이적인 염기배열을 나타내었다.

9. 축산관련 직장인의 부루셀라에 대한 혈중항체가 분포

경북지역내에서 활동하고 있는 공개업 수의사 및 가축위생시험소에 근무하고 있는 수의사 82명과 목장 관리인 14명 등, 총 96명을 대상으로 부루셀라균과의 접촉여부를 확인하기 위하여 혈청 평판응집반응법으로 혈중항체가를 측정함

Table 9. Drug susceptibility of isolates(*B abortus*) and vaccine strain(*B abortus* RB51)

Strin	Sensitive drugs	Resistant drugs
Isolates (<i>B abortus</i>)	ampicillin, gentamicin, kanamycin, neomycin, penicillin, streptomycin, tetracycline	erythromycin colistin
Vaccine strain (<i>B abortus</i> RB51)	ampicillin, gentamicin, kanamycin, neomycin, penicillin, streptomycin, tetracycline	erythromycin cephalothin



Fig 2. Specificity of the PCR assay for detection of *Brucella* species using BA, IS 711, and RB51 primers.

Lane M ; 1Kb DNA ladder, Lane 1 to 3; *B abortus* RB51,
Lane 4 ; *B abortus* isolated from supramammary glands,
Lane 5 ; *B abortus* 1119-3, Lane 6; *B abortus* N99.

결과는 Table 10과 같다.

시험소 근무 수의사는 71명 중 61명은 6.25배 이하이었으나, 8명이 12.5배, 1명이 25배, 1명이 100배를, 개업수의사는 11명 중 10명이 6.25배 이하, 1명이 12.5배를, 농장관리인은 14명 중

10명이 6.25배 이하, 2명이 12.5배, 1명이 25배, 1명이 200배로 나타났다. 따라서 전체적으로 96명 중 82명(85.4%)이 6.25배 이하, 11명(11.5%)이 12.5배, 2명(2.1%)이 25배, 1명(1.0%)이 100배, 1명(1.0%)이 200배로 나타났다.

10. 근무연수에 따른 혈중항체가 분포

수의사 및 목장 관리인 96명을 대상으로 근무연수에 따라 부루셀라에 대한 혈중항체 수준을 조사한 성적은 Table 11과 같다. 10년 이하의 경력자에서는 51명 중 38명이 6.25배 이하, 9명이 12.5배, 2명이 25배, 1명이 100배, 1명이 200배로 나타났고, 11년 이상 20년 이하의 경력자에서는 22명 중 20명이 6.25배 이하, 2명이 12.5배를, 20년 이상의 경력자에서는 전부가 6.25배 이하이었다.

고 찰

*Brucella*속 균은 비교적 폭넓은 숙주범위를 가지는 병원균으로 소, 돼지, 양 등에 일차 감염된 후 이들과 접촉이 빈번한 직업인에 이차감염을 일으키는 인수공통전염병이다. 즉,

Table 10. Antibody titers against *Brucella* species in human according to occupation

Occupation	No of human tested	Antibody titers(%)					
		< 6.25	× 12.5	× 25	× 50	× 100	× 200
Lab Vet	71	61	8	1	.	1	.
Field Vet	11	10	1
Farmer	14	10	2	1	.	.	1
Total	96	81(84.4)	11(11.5)	2(2.1)	.	1(1.0)	1(1.0)

Table 11. Antibody titers of *Brucella* species to human according to career

Career (year)	No of human tested	Antibody titers (%)					
		<×6.25	×12.5	×25	×50	×100	×200
<10	51	38	9	2	—	1	1
11 - 20	22	20	2	—	—	—	—
21 - 30	15	15	—	—	—	—	—
31<	8	8	—	—	—	—	—
Total	96	81(84.4)	11(11.5)	2(2.1)	—	1(1.0)	1(1.0)

brucella 균은 가축에서 비노생식기에 증식함으로써 유산 및 불임증을 포함한 번식성 질환을 유발하며, 사람에서는 피부상처, 오염식품, 오염공기 등으로 감염이 되며, 주로 산발성 발열을 특징으로 하는 다양한 형태의 전신성 질환을 유발하는 인수공통전염병이다⁴⁾.

따라서 우리나라에서는 젖소의 부루셀라병을 근절하기 위하여, 목장별 집합우유를 대상으로 MRT법을 이용하여 감염우군을 스크리닝한 후, 우군의 개체별 혈청을 이용한 평판 및 시험관 응집반응과 보체결합반응, rose bengal test 등으로 감염개체를 검색하여 살처분하고 있다.

국내에서 부루셀라병은 1956년에 최초로 젖소에서 대규모로 38두에서 집단 발생이 보고되었으며, 이어서 1958년에는 돼지에서, 1959년에는 육우에서 대규모적인 발생이 있었으며 그로 인한 피해는 실로 막대하였다¹⁶⁻¹⁸⁾. 그 후 1967년까지는 극히 소수의 젖소와 돼지에서 검색되어 도태되었으며, 1968년부터 1978년까지는 1973년의 8두를 제외하고는 젖소에서 양성우가 검색되지 않았다. 즉 그 동안 소의 부루셀라병은 거의 근절상태로 유지되었으나, 1979년부터 해마다 그 수가 증가되어 1984년에는 젖소에서 brucella 양성우가 134두, 1985년 394두로 계속 증가되다가 1997년에는 912두가 발생되었다^{8, 25)}. 따라서 지속적이면서 급증하는 부루셀라병을 근절하고자 1998년에는 외국에서 도입한 예방백신 균주(*B abortus* RB51)를 이용, 전국의 젖소를 대상으로 백신접종 사업을 실시하였으나 그 가능성은 매우 불투명한 실정이다.

지역별 발생상황을 보면 1984년 이후 매년 100두 이상 발병되고 있는 제주도가 전국에서 가장 높은 발병률을 보이고 있으며, 이로 인해 이 지역의 부루셀라병 근절을 위한 대책을 수립하여 실시하여 왔다⁸⁾. 즉 이 병의 방역을 위하여 1991년부터 5개년 방역사업으로 제주도 내의 전 축우를 대상으로 예방접종은 하지 않고 혈청검사에서 양성으로 판정되면 살처분하는 방식을 택해 일제검진을 지속적으로 실시하여 왔다²³⁾. 그러나 현재까지도 이 병은 근절되지 않고 지속적으로 발생되고 있다. 이는 제주도

에서는 대부분의 소 사육농가가 봄부터 가을까지 공동방목장에서 혼합 사육함으로써 이환우와 동거축의 접촉이나 종모우에 의한 자연 교미가 부루셀라병의 주요 전염 원인으로 추정되고 있다²³⁾.

경북지역에서 부루셀라병의 발생상황은 1983년 이전에는 거의 발생되지 않았으나 1984년에 8두를 비롯하여 1985년 13두, 1986년 12두, 1987년 2두가 발생되었다가, 1988년부터 1994년까지는 1991년의 8두를 제외하고는 거의 근절되는 듯 하였다. 그러나 1995년 4두, 1996년 9두, 1997년 9두에서 발생보고 되었고, 1998년에는 15농가 101두에서 폭발적으로 검색되었다. 이는 최근 소 가격하락에 의한 매매 증가로 지역간 소의 이동이 빈번하여지고 또한 제주도 등 부루셀라병 다발지역의 소가 경북지역으로 유입됨에 따른 발생 증가로 추정된다.

경북지역내 검사기관 4곳에서 1996년부터 1998년까지 매년 3~5회에 걸쳐 착유목장별 집합우유를 대상으로 실시한 MRT의 성적은 1996년에는 4,554개 목장 중 0~1.8%에서, 1997년에는 5,272개 목장 중 0.2~3.9%에서, 1998년에는 3,945개 목장 중 0.8~6.0%에서 각각 양성률을 보여, 1996년부터 1998년까지의 MRT 성적은 해마다 양성률이 증가하는 현상이며, 이러한 결과는 정 등²⁾이 1988년 경북지역의 2,479개 우군의 집합우유에 대한 MRT 조사에서 17개 우군(0.69%)이 양성임을 보고한 성적보다는 높았다.

또한 MRT에서 양성목장으로 판명된 우군을 대상으로 평판 및 시험관 응집반응법을 적용한 결과 brucella 양성우가 검색된 목장빈도는 검사기관 A에서는 13 목장 중 2(15.4%)에서, 검사기관 B에서는 45 목장 중 4(8.9%)에서, 검사기관 C에서는 142 목장 중 9(6.3%)에서, 검사기관 D에서는 62 목장 중 6(9.7%)에서 각각 양성우를 검출하여, 3년동안 전체 경북지역내 262개 MRT 양성목장 중 21개 목장에서 양성우가 나타나 8.0%의 양성률을 보였다.

이와 같이 MRT 양성목장 중에서 brucella 감염개체를 검색하는 비율이 전반적으로 낮은 것은 시료채취 과정에서부터 검사에 이르기까지

지 여러 요인에 의한 비특이 반응이 있을 수 있기 때문이다. 즉, 채취과정에서 과도한 크립층이 포함되거나 크립층이 너무 적게 포함되는 경우, 그리고 신선한 우유를 채취 당일에 검사하여도 비특이 반응이 나타날 수 있다. 따라서 시료채취 시에도 주의가 요구되며, 재료의 보존기간은 적어도 12시간 이상 4°C에서 저장한 후 검사하여야 한다. 또한 유방염에 감염된 우유이거나 분만 직후의 초유, 혹은 건유 후의 우유를 시료로 사용할 경우에도 비특이 요인이 될 수 있다. 검사시에도 너무 과도하게 흔들거나 45°C 이상의 온도에서 5분 이상 보존하였을 경우에도 의양성 반응의 한 요인이 될 수 있다. 따라서 검사기관에 근무하는 요원들은 부루셀라병 검사를 위한 스크리닝에서 활용하고 있는 MRT 진단액의 비용과 소요인력이 막대한 실정이므로 이 검사 시에는 위에서 언급한 비특이반응 요인의 발생을 막는데 세심한 주의가 요구된다.

응집반응에서 양성우로 판정된 개체에서 실질장기별 brucella균의 분리율은 Nelson 등²⁶⁾은 상유방 림프절이 80%로 가장 높고 다음이 유방 59%, 우유 45%, 자궁 42%, 비장 37%의 순으로 보고하였고, 정 등²²⁾은 상유방 림프절 55.6%, 유즙 40.7%로 보고하였다.

Ewalt와 Harrington²⁷⁾은 부루셀라균 39 분리주중 상유방 림프절에서 31주(79.5%)가 분리되었음을 보고한 바 있다. 이 실험에서는 상유방 림프절에서는 43예 중 22예(51.2%)에서 분리되었고, 우유에서는 38예 중 15예(39.5%)에서 분리되었으며, 폐문림프절에서는 4예 중 2예(50.0%)에서 분리되었다. 이와 같이 brucella균이 상유방 림프절에서 높게 분리되는 것은 Nelson 등²⁶⁾, Manthei와 Carter²⁸⁾, 그리고 Nicoletti와 Muraschi²⁹⁾의 결과와 일치하였다. 따라서 감염우에서 brucella균을 분리하고자 할 때에는 상유방 림프절을 포함한 기타 조직을 사용하므로써 균분리가 용이할 것으로 판단된다. 특히 이 실험에서는 폐문림프절에서도 brucella균이 분리되고 있음을 알 수 있다.

이 실험에서 경북지역의 젖소에서 분리한 brucella속 균의 균종과 생물형은 A 목장에서는

16두 유래 분리균 중 14두는 *B abortus* biovar 1 이었으며, 2두는 *B suis* biovar 1 이었고, B 및 C 목장에서는 12두 전두수에서 *B abortus* biovar 1이 분리되어 전체 26주의 *B abortus* biovar 1과 2주의 *B suis* biovar 1이 분리되었다. 국내에서 우와 서²¹⁾는 1986년 경기도지역의 젖소에서 상유방 림프절로부터 *B abortus*를 분리 보고하였고, 정 등²²⁾은 1988년 경북지역의 젖소 20두 유래 상유방 림프절, 유즙, 자궁에서 *B abortus* biovar 1을 분리 보고하였으며, 심 등²⁵⁾은 1996년 경기도지역의 젖소 유래 상유방 림프절, 유즙, 비장에서 38주의 *B abortus* biovar 1을 각각 보고한 바 있다. 또한 김 등³⁰⁾은 1988년 제주도 젖소로부터 brucella 8주를 분리하여 이중 5주는 *B abortus* biovar 1이고, 3주는 *B suis* biovar 1인 것으로 보고한 바 있다.

따라서 국내 가축 중에서 소에서는 대부분 *B abortus*가 분리되지만 간혹 *B suis*도 분리됨을 알 수 있어 돼지뿐만 아니라 소에서도 *B suis*의 감염가능성에 대해서도 항상 유의하여야 되겠다. 이 실험에서 젖소에서 *B suis*가 분리되는 것으로 미루어 경북지역의 부루셀라병은 제주도에서 유입된 젖소에 의한 전염 가능성을 추정할 수 있었다.

동일 균종의 brucella에서도 종이하의 균형 결정은 원인균의 역학적 연구수단에 크게 도움이 될 수 있다. Harrington과 Brown³¹⁾은 미국의 여러 주에서 분리된 *B abortus* 균의 분포를 보고함에 있어 biovar 1형이 86.4%, 2형이 4.6%, 4형이 2.1%, strain 19가 6.3%라고 하였으며, Luchsing 등³²⁾은 미네소타주의 젖소에서 1형이 51%, 2형이 5%, 4형이 38%, strain 19가 3%의 분포를 보였음을 보고한 바 있다. 영국에서 Maclaren과 Morgan³³⁾은 *B abortus*의 균형분포는 1형이 84%, 2형이 0.26%, 3형이 0.86%, 4형이 0.34%, 5형이 13.9%, 6형이 0.17%, 7형이 0.09%, 8형이 0.09%, 9형이 0.26%임을 보고하였다. Bale과 KumiDiaka³⁴⁾는 나이지리아의 축우에서 분리한 8주의 *B abortus*는 1형, 3형, 그리고 4형에 속함을 보고하였다. 그러나 본 조사에서는 위의 연구들과는 달리 biovar 1형만이 분리되고 있어 국내발생 부루셀라병의

원인균은 *B abortus* 1형임을 알 수 있었다.

가축에서 부루셀라병의 이환이 확인되면 치료제의 투여없이 살처분을 실시하지만 실험실 또는 사람에서의 감염증 치료에는 항생제의 투여가 필수적이므로 감수성 약제의 선정이 도움이 되리라 생각되어 분리균주를 대상으로 항생제 감수성검사를 실시하였다. 이 실험 과정에서 분리된 *B abortus* 균주는 ampicillin, cephalothin, gentamicin, kanamycin, neomycin, penicillin, streptomycin, tetracycline 등에는 감수성이었고, colistin, erythromycin에는 내성이었다. 그러나 예방백신균주인 *B abortus* RB-51 균주는 ampicillin, colistin, gentamicin, kanamycin, neomycin, penicillin, streptomycin, tetracycline에는 감수성이었고, cephalothin, erythromycin에는 내성이었다.

부루셀라병의 진단은 균을 직접 분리 및 동정하는 것이 가장 확실한 진단법이기는 하지만 시간이 많이 소요되는 단점이 있으며, 혈청학적 진단법은 비특이 반응이 높고⁴⁾, 만성 감염증은 검출하지 못하는 경우가 많아 최근에는 민감성과 특이성이 높은 것으로 알려져 있는 중합효소연쇄반응(PCR)이 진단에 응용되고 있다^{14, 15)}.

Leal-Klevezas 등³⁵⁾은 PCR 기법을 사용하여 198bp 크기의 omp-2 유전자를 brucella 균에서 특이적으로 검출할 수 있었고, 이 기법을 부루셀라병 감염환자 및 염소를 대상으로 혈청학적인 방법 등과 비교 시험한 결과 감염환자 3명과 인공 감염시킨 염소 3두는 PCR 법이나 혈청학적인 방법 및 균 분리법 모두에서 확인할 수 있었으며, 야외 염소 22두에 대한 비교시험에서는 RBPT 검사에서 14두가 양성이었고 혈액 중에서는 단 1두에서만 brucella 균이 분리되었으나 PCR 기법으로 혈액 중 19두, 우유 17예 중 11예에서 양성으로 나타나 PCR 기법이 매우 민감성이 높은 방법임을 제시하였다.

본 실험에서도 PCR 기법에 의한 검사에서 분리된 균주로부터 *B abortus*의 염기배열을 가진 primer와 특이적으로 반응하여 Bricker와 Halling의 결과^{14, 15)}와 일치함을 알 수 있었다. 이와 같이 PCR 기법을 이용한 진단법은 bruce-

lla 균을 확인하는데 사용될 수 있을 뿐만 아니라 항체수준이 낮은 예에서도 brucella 균을 신속히 검출할 수 있으므로 앞으로 혈청학적인 방법과 병행하여 유즙, 정액, 림프절 등의 재료로부터 직접 brucella 균을 검출하는데 PCR 기법이 많이 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

사람에 대한 혈중내 brucella 항체역가 조사로는 손 등²⁴⁾이 1986년 발열성환자 혈청 18예에서 평판응집 역가가 1:20이하가 11건, 1:20이 1건, 1:80이 3건이었고, 목축업자, 유제품 가공업 종사자, 공수의 등의 혈청 407예에서 1:20이하가 394건, 1:20이 3건, 1:40이 6건, 1:80이 3건, 1:320이 1건이었음을 보고한 바 있다.

이 실험에서는 공개업 수의사 및 가축위생 시험소에 근무하고 있는 수의사 82명과 목장 관리인 14명 등을 대상으로 brucella 병의 직업별 감염 유무조사에서 시험소 근무 수의사는 71명 중 61명이 6.25배 이하였으며, 8명이 12.5배, 1명이 25배, 1명이 100배를 나타내었고, 개업수의사는 11명 중 10명이 6.25배 이하, 1명이 12.5배를 나타내었으며, 농장관리인은 14명 중 10명이 6.25배 이하, 2명이 12.5배, 1명이 25배, 1명이 200배를 나타내었다. 또한 이들의 근무 경력에 따른 항체 역가 수준은 10년 이하의 경력자에서는 51명 중 38명이 6.25배 이하, 9명이 12.5배, 2명이 25배, 1명이 100배, 1명이 200배를 나타내었고, 11년 이상 20년 이하의 경력자에서는 22명 중 20명이 6.25배 이하, 2명이 12.5배를 나타내었으며, 20년 이상의 경력자에서는 전부가 6.25배 이하를 나타내었다. 따라서 경력 10년 이하의 수의사 1명과 목장 관리인 1명은 각각 1:100 및 1:200의 항체 역가를 보여 과거 brucella 균에 감염되었던 것으로 생각되었다. 그러나 혈청학적 방법에 의존한 이 실험의 결과만으로는 *Yersinia enterocolitica* O9의 감염에 의한 교차반응의 여부는 배제할 수 없다.

이와 같이 동물과 접촉이 많은 직업인에서 높은 항체역가를 보이며, 주로 경력이 적은 사람에서 brucella 양성반응을 보이고 있어 실험실이나 동물과 접촉할 경우에는 각별한 주의

가 요망되며, 또한 앞으로 이들 직업인에 대한 사회의 인식이 제고되어야 할 것으로 판단되었다.

결 론

경북지역에서 1996년부터 1998년까지의 부루셀라병에 관한 역학적, 미생물학적 및 유전학적 연구 결과는 다음과 같다. 젖소 부루셀라병은 1997년 이전까지는 거의 발생되지 않거나 소수 예에 불과하였으나 1998년에는 대규모로 발생되고 있다.

1. 젖소군에 대한 MRT 결과 1996년에는 양성률이 0.6% (29/4,554), 1997년에는 1.5% (81/5,272), 1998년에는 3.9% (152/3,945)로 매년 증가하고 있으며, 검사기관에 따라 양성률의 차이가 인정되었으나, 3년 동안 262개 MRT 양성목장 중 21개 목장에서만 brucella 양성우가 나타나 8.0%의 양성률을 보였다.

2. 검사재료별 brucella균 분리율은 상유방 림프절에서 51.2%, 우유에서 39.5%, 폐문 림프절에서 50.0%가 분리되어 상유방 림프절에서의 분리율이 가장 높았다. 분리된 brucella의 균종과 생물형은 2두에서는 *Brucella abortus* biovar 1이었고, 2두는 *B suis* biovar 1이었다. 분리균주와 예방백신 균주는 배지에서 집락 형태와 염색성은 육안적으로 거의 동일하였다.

3. 분리주 *B abortus* biovar 1과 백신주 *B abortus* RB-51는 ampicillin, gentamicin, kanamycin, neomycin, penicillin, streptomycin, tetracycline에서는 감수성이었고, erythromycin에서는 내성이었다. 그러나 cephalothin에서는 분리주는 감수성이었으나 백신주는 내성이었으며, colistin에서는 분리주가 내성이었으나 백신주는 감수성을 나타내었다.

4. 중합효소연쇄반응(PCR) 결과는 야외 분리주인 *B abortus* biovar 1는 BA 및 IS711 primer에 반응하였고, 예방백신균주인 *B abortus* RB-51는 BA, IS 및 RB51 primer에 반응하였다.

5. 동물과 접촉하는 직업인 96명에 대한 평균 응집반응 결과는 81명(84.4%)이 6.25배 이하,

11명(11.5%)이 12.5배, 2명(2.1%)이 25배, 1명(1.0%)이 100배, 1명(1.0%)이 200배를 나타내었다. 또한 경력에 따른 조사에서는 10년 이하의 경력자에서 높은 항체가를 나타내었다.

참고문헌

1. Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE. 1988. Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. 8ed 135~152. Cornell university press.
2. Krieg NR, Holt JG. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology. 377~388. William and wilkins. Office international des epizooties. 1992. Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. OIE.
4. Morgan WJB, Mackinnon DJ, Gill KW . 1978. Brucellosis diagnosis standard laboratory techniques. 2ed. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. 1~53
5. Wyngaardem JB, Smith LH, Bennett JC. 1992. Cecil Textbook of Medicine. 5ed. Saunders company. 1927~1929.
6. Morgan JB. 1967. The serological diagnosis of bovine brucellosis. Vet Rec 80 : 612~61.
7. Chen IM, Thoen CO, Pietz D, Harrington R. 1984. Application of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Brucella* antigen in vaginal discharge of cows. Am J V Res 45 : 32.
8. 농림부. 농림수산통계연보. 1996.
9. 문진산, 박용호, 정석찬 등. 1996. 소 브루셀라 감염우의 혈청학적 진단법 비교와 세포성 면역반응에 관한연구. 한국수의공중보건학회지 20 : 185~194.
10. Alton GG, Jones Lm. 1975. Laboratory techniques in brucellosis, world Health Organization, Geneva, 1~163.
11. USDA. 1985. Brucellosis eradication ;

- Uniform methods and rules. Animal and Plant Health Inspection Service, Iowa.
12. Perry MB, Bundle DR. 1990. Antigenic relationships of the lipopolysaccharides of *Escherichia hermannii* strains with those of *Escherichia coli* O157 : H7, *Brucella melitensis*, and *Brucella abortus*. *Infect Immun* 58 : 1391~1395.
 13. Mittal KR, Tizard IR. 1980. Studies on the relationship between *Yersinia enterocolitica* Ix and *Brucella abortus* agglutinins in naturally infected animals. *Res vet Sci* 28 : 311~314.
 14. Bricker BJ, Halling SM. 1995. Enhancement of the *Brucella* AMOS PCR assay of differentiation of *Brucella abortus* vaccine strains s19 and RB51. *J clin Micro* 33(6) 1640~1642.
 15. Bricker BJ, Halling SM, 1994. Differentiation of *Brucella abortus* bv. 1, 2, 4 and 4, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis* bv. 1 by PCR. *J Clin Micro* 32(11) : 2660~2666.
 16. 박동권, 이창희. 1959. 우리나라에 발생한 축우 *Brucella*병에 대하여 수의계 제3권 : 392~395.
 17. 박동권. 1959. *Brucella*병에 대하여 수의계 제3권 : 396~398.
 18. 박봉조, 하민식. 1963. *Brucella*병에 관한 연구 : 도입축우 및 한우의 브루셀라 응집 역가의 동요에 대하여. *농사시험연구보고* 제8집 제3권 : 95~98.
 19. 정병탁. 1969. 유우브루셀라병 진단을 위한 Milk Ring test의 이용가치, *대한수의학회지* 제9권 : 55~59.
 20. 김금화, 안수환, 박용호, 김동성. 1982. 브루셀라 검안에 사용되는 여러 가지 혈청진단법의 비교연구. *대한수의학회지* 22 : 149~153.
 21. 우종태, 서연수. 1986. 홉스타인 유우로부터 *Brucella abortus*의 분리와 분리균의 성장에 관한 연구. *서울대학교 수의대 논문집* 11(1) : 103~118.
 22. 정종식, 조용준, 박청규. 1988. 경북지방 젖소로부터 *Brucella abortus*의 분리 및 균형별. *대한수의학회지* 29(2) : 339~343.
 23. 정석찬, 정병열, 우성룡, 조동희. 1988. 종모우 정액중 *Brucella*균 신속검출을 위한 PCR 기법개발. *대한수의학회지* 38(2) : 345~352.
 24. 손준강, 이길웅, 강재창, 박만석. 1986. Zoonosis 부루셀라증에 관한 연구. *국민보건원보* 제23권 281~295.
 25. 심항섭, 고태오, 유성종, 우종태. 1996. 경기도에서 발생하는 유우 부루셀라병에 관한 연구. *한국가축위생학회지* 19(3) : 189~304.
 26. Nelson CJ, Anderson RK, Kimberling CV. 1966. Epizootiologic factors of bovine brucellosis : Comparative bacteriologic studies of infected herds. *AM J Vet Res* 27 : 1515~1520.
 27. Ewalt DR, Harrington R. 1979. Isolation of *brucella abortus* and *brucella abortus* strain 19 from cattle. *J A V M A* 174 : 172~178.
 28. Manthei CA, Carter RW. 1950. Persistence of *Brucella abortus* infection in cattle. *Am J Vet Res* 11 : 173~180.
 29. Nicoletti PL, Muraschi TF. 1966. Bacteriologic evaluation of serologic test procedures for the diagnosis of brucellosis in problem cattle herds. *Am J Vet Res* 27 : 689~694.
 30. 김종만, 정석찬, 박정문, 1988. 부루셀라 양성우에서 분리한 균의 성장과 혈청학적 진단법 비교. *농사시험논문집* 30(2) : 1~6.
 31. Harrington R. Brown GM. 1976. Laboratory summary of brucella isolation and typing. *Am J Vet Res* 37 : 1241~1242.
 32. Luchsinger DW, Angus RD, Gue CS. 1973. The utilization of *Brucella abortus* culturing and biotyping results in the epizootiologic investigation of bovine brucellosis.

- Pro Annu Meet US Anin Health Assoc
77 : 85~99.
33. Maclaren APC, Morgan WJ Brinley. 1973.
The incidence of the various biootypes of
Brucella abortus in cattle in the south west
of Scotland. Vet Rec 93 : 392~396.
34. Bale OOJ, Kumi-Diaka J. 1981. Serological
and bacteriological study of bovine *bru-*
cell a from livestock investigation and
breeding centres in Nigeria. Br Vet J 137
: 256~261.
35. Leal-Klevezas DS, Martinez-Vazquez IO,
Lopez-Merino A. 1995. Single-step PCR
for detection of *Brucella spp* from blood
and milk of infected animals. J Clin Micro-
biol 33 : 3087~3090.