

소 질병 검출을 위한 혈청학적 검사의 민감도 평가

이상진¹ · 문운경¹ · 박선일^{2,*}

¹국립수의과학검역원, ²강원대학교 수의학부대학 및 동물의학종합연구소
(게재승인: 2010년 3월 10일)

Sensitivity analysis of serological tests for detection of disease in cattle

Sang-Jin Lee¹, Oun-Kyong Moon¹, Son-Il Pak^{2,*}

¹National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang 430-757, Korea

²School of Veterinary Medicine and Institute of Veterinary Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

(Accepted: March 10, 2010)

Abstract : Animal disease surveillance system, defined as the continuous investigation of a given population to detect the occurrence of disease or infection for control purposes, has been key roles to assess the health status of an animal population and, more recently, in international trade of animal and animal products with regard to risk assessment. Especially, for a system aiming to determine whether or not a disease is present in a population sensitivity of the system should be maintained high enough not to miss an infected animal. Therefore, when planning the implementation of surveillance system a number of factors that affecting surveillance sensitivity should be taken into account. Of these parameters sample size is of important, and different approaches are used to calculate sample size, usually depending on the objective of surveillance systems. The purpose of this study was to evaluate the sensitivity of the current national serological surveillance programs for four selected bovine diseases assuming a specified sampling plan, to examine factors affecting the probability of detection, and to provide sample sizes required for achieving surveillance goal of detecting at least an infection in a given population. Our results showed that, for example, detecting low level of prevalence (0.2% for bovine tuberculosis) requires selection of all animals per typical Korean cattle farm ($n = 17$), and thus risk-based target surveillance for high risk groups can be an alternative strategy to increase sensitivity while not increasing overall sampling efforts. The minimum sample size required for detecting at least one positive animal was sharply increased as the disease prevalence is low. More importantly, high reliability of prevalence estimation was expected with increased sampling fraction even when zero-infected animal was identified. The effect of sample size is also discussed in terms of the maximum prevalence when zero-infected animals were identified and on the probability of failure to detect an infection. We suggest that for many serological surveillance systems, diagnostic performance of the testing method, sample size, prevalence, population size, and statistical confidence need to be considered to correctly interpret results of the system.

Keywords : detection probability, sample size, sensitivity, surveillance system

서 론

가축질병이 유입되어 정착되는 것을 차단하는 일차적인 수단은 국가, 지역 혹은 농장 단위에서 효과적인 방

역시스템을 운용하는 것이다. 그러나 어떠한 형태의 방역시스템이라고 하더라도 완벽한 방어수단을 제공할 수 없기 때문에 질병이 유입된 이후에는 심각한 경제적 손실이 초래되기 이전에 조기에 검출하는 것이 핵심이다.

*Corresponding author: Son-Il Pak

School of Veterinary Medicine and Institute of Veterinary Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea
[Tel: +82-33-250-8672, Fax: +82-33-244-2367, E-mail: paksi@kangwon.ac.kr]

조기검출은 질병확산 가능성에 대한 조기경보와 백신접종이나 살처분 등 신속대응(early reaction)을 가능하게 하므로 이를 위해서는 질병발생 상황에 대한 정보, 방역당국의 질병 인지도, 보고체계 등을 포함하는 포괄적인 감시시스템(surveillance system)이 적절히 가동되고 있어야 한다. 이와 더불어 질병이 확산되는 것을 차단할 목적으로 비용-효과적인 방법으로 방역자원의 분배전략, 진단 및 백신프로그램, 단계별 방역조치 내용, 질병의 확산 가능성 예측 등에 대한 세부방안이 수립되어 있어야 한다 [9, 14, 17]. 조기경보(early warning)는 사회, 경제 및 공중보건학적으로 심각한 영향을 미치거나 유행적 발생양상을 초래할 수 있는 질병의 발생건수가 급격히 증가하거나 유입되는 것을 신속히 파악하는 것이다. 이러한 의미에서 특히 유병율이 낮은 질병에 대해서는 집단에서 감염된 개체를 신속히 검출하여 제거하는 것이 감시시스템의 주요 목표가 되며, 이러한 시스템을 구축할 때 진단검사의 특성, 검진두수(표본크기), 유병율, 통계적 유의수준 등 많은 요인을 고려해야 한다 [4-6, 14]. 예를 들어 검진결과 양성으로 확인된 시료가 없을 때 모집단에서 실제로 감염이 존재하지 않는다고 해석할 수도 있지만 한편으로 감염이 존재하지만 이를 검출하지 못하였을 가능성도 있다. 두 방법 중 어느 쪽으로 해석할지는 흔히 표본크기를 기준으로 결정하는데 표본크기가 충분히 크면 전자의 해석이 유효하고 반대로 표본크기가 적절하지 못하면 후자로 해석하는 것이 타당하다. 표본크기가 충분한 경우에도 후자의 방법으로 해석할 수 있으며 이 경우 전 두수 음성일 때 유병율의 최대값을 추정하게 된다.

우리나라의 가축방역사업은 가축전염병예방법에 의거하여 주요 가축전염병의 근절·발생 최소화를 장기목표로 혈청학적 검진사업을 수행하고 있으며, 2009년도 가축방역사업계획 및 실시요령에 의하면 소 질병 8종, 돼지 질병 3종, 닭 질병 5종 등 총 16종의 질병을 계획하고 있다 [1, 2]. 사업계획과 관련하여 개선이 요구되는 사항은 유병율 추정이나 질병 비발생 증명 등과 같은 질병별 사업의 구체적인 실행목표가 구체화되어 있지 않

기 때문에 검진계획 두수가 과소 혹은 과대추정될 가능성을 배제할 수 없다는 점이다. 또한 사업수행에 필요한 검진두수를 행정구역별로 단순 할당하여 시료의 대표성이 없어 검진결과와 신뢰성을 보장하지 못할 뿐만 아니라 방역사업의 목표달성 여부를 평가하지 못하고 결과적으로 검진결과를 객관적으로 해석할 수 없는 근본적인 한계가 있다. 이러한 문제로 인해 전년도 사업결과가 차기년도 방역정책수립과 방향설정에도 효과적으로 활용하지 못하게 되는 악순환으로 연결되어 현행 사업 수행체계와 방법에 대한 개선이 시급하다. 본 연구에서는 유병율이 서로 다른 소의 일부 질병에 대하여 감염을 검출할 확률과 감염을 검출하는데 필요한 최소 표본크기를 추정함으로써 혈청학적 감시시스템을 구축하는데 필요한 정보를 확보하고자 수행하였다.

재료 및 방법

유병율과 진단검사의 특성

표본크기 계산에 필요한 모수로서 소결핵병, 소류코시스, 요네병 및 아까바네병에 대한 유병율 추정치와 진단검사의 특성에 대해서는 국립수의과학검역원의 혈청검진 사업결과에 대한 데이터베이스와 문헌고찰 결과를 분석하여 결정하였다(Table 1).

감염검출 확률

본 연구에서 감시시스템의 목적은 모집단에서 감염이 특정한 유병율로 존재할 때 적어도 1두의 감염된 개체를 검출하는 것으로 정의하였다. 표본추출 계획에 의해 감염개체와 비감염개체가 선발될 확률이 모두 동일하다고 가정할 때 진단검사의 민감도를 고려하는 경우와 고려하지 않은 경우로 구분할 수 있다 [5]. 먼저 무한모집단(모집단 크기 N)에서 민감도가 완벽하다면 이항분포에 의해 특정한 유병율(AP)로 감염이 존재할 때 표본크기 n 에서 감염을 검출할 확률 즉 신뢰수준(C)은 $C = 1 - (1 - AP)^n$ 으로 계산된다. 적어도 1두의 감염을 검출하는데 필요한 최소 표본크기를 계산하기 위해서 위의 식을

Table 1. Parameters used to estimate the probability of detection and sample size

Disease	WHP (%)	Diagnostic test		
		Method	Sensitivity (%)	Reference
Bovine TB	5	PPD	70	[3, 10, 11]
EBL	15	AGP	95	[1, 12, 18]
Johne's disease	20	ELISA	40	[7, 8, 16]
Akabane disease	30	SN	99	[2]

WHP, within-herd prevalence; TB, tuberculosis; EBL, enzootic bovine leukosis; PPD, purified protein derivatives; AGP, agar gel precipitation; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; SN, serum neutralization.

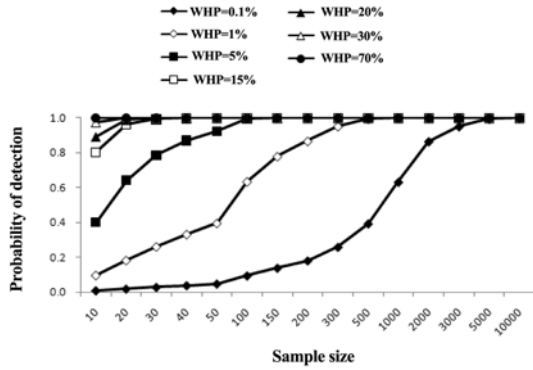


Fig. 1. Probability of detecting infection with a perfect diagnostic test as a function of sample size for a range of prevalence (from 0.1% to 70%) and sample sizes.

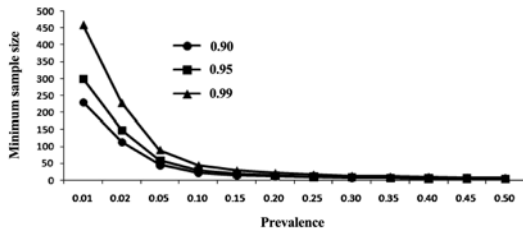


Fig. 2. Relationship between minimum sample size required for a range of specified detection probability and prevalences.

n에 대하여 정리하면 $n = \log(1 - C) / \log(1 - AP)$ 와 같다. 따라서 n개의 시료 중 양성시료가 없을 때 유병율 최대 추정치(AP_{upper})의 신뢰구간은 $[0, 1 - (1 - C)^{1/n}]$ 으로 계산된다. 한편 유병율의 최대추정치는 유한모집단에서 양성개체의 최대수(d)를 $d = (1 - (1 - C)^{1/n}) \times (N - \{n - 1/2\})$ 로 계산한 후 d/N 으로 추정하였다 [6]. 두 번째로 유한모집단에서 감염을 검출할 확률을 계산하기 위해서는 초기하분포를 사용해야하지만 계산과정이 복잡하기 때문에 간편 공식을 사용한다. 즉 감염된 개체(d)가 있는 어느 모집단에서 표본을 선별하여 검사할 때(sampling fraction, SF) 적어도 1두의 감염된 개체를 검출할 확률(C)은 $C = 1 - [1 - d / \{(N - (n - 1) / 2\}]^n$ 로 계산하였다 [4, 5]. 유한모집단에서 민감도(Se)가 완벽하지 않을 때 감염을 검출할 확률은 $(1 - n \times Se / N)^N$ 로 계산하였다.

결 과

진단검사가 완벽하다는 가정에서 감염을 검출할 확률을 표본크기와 유병율의 함수로 요약하면 Fig. 1과 같다. 예를 들어 모집단에서 100두의 표본을 선별하여 검

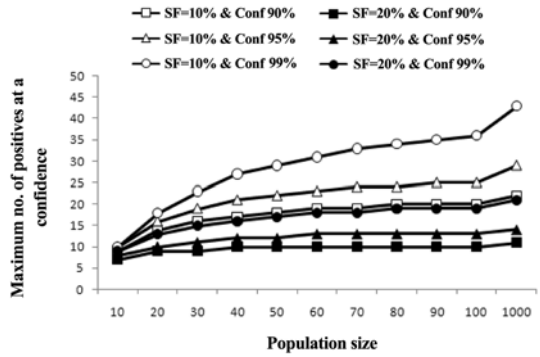


Fig. 3. Relationship between maximum number of positives for sampling fraction with confidence and population size.

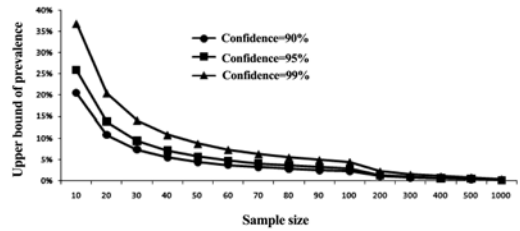


Fig. 4. Upper bounds of 90%, 95%, and 99% confidence intervals of prevalence when zero-infected animals in the sample tested were found.

Table 2. Upper bounds of 90%, 95%, and 99% confidence interval of prevalence when zero-infected animals were detected

Sample size	Confidence level		
	90%	95%	99%
20	[0, 10.9%]	[0, 13.9%]	[0, 20.6%]
50	[0, 4.5%]	[0, 5.8%]	[0, 8.8%]
100	[0, 2.3%]	[0, 3.0%]	[0, 4.5%]
200	[0, 1.1%]	[0, 1.5%]	[0, 2.3%]
500	[0, 0.5%]	[0, 0.6%]	[0, 0.9%]
1,000	[0, 0.2%]	[0, 0.3%]	[0, 0.5%]

사할 경우 감염을 검출할 확률은 유병율이 0.1%일 때 9.5%, 1%일 때 63.4%로 추정되었다. 소결핵병, 소류코시스, 요네병, 아까바네병의 유병율(Table 1)을 고려하여 2009년 9월 기준으로 국내 소의 평균 사육두수를 20두(통계청 자료에 의하면 17두임)로 가정할 때 20두의 표본에서 감염을 검출할 확률은 각각 64.2%, 96.1%, 98.9%, 99.2%로 계산되었다(Fig. 2). 또한 지정한 유병율에서 감염을 검출하는데 필요한 최소 표본크기는 유병율이 낮을수록 급격히 증가하였는데 이를테면 소결핵병과 아까바네병의 유병율을 95% 신뢰수준에서 검출하기 위해서

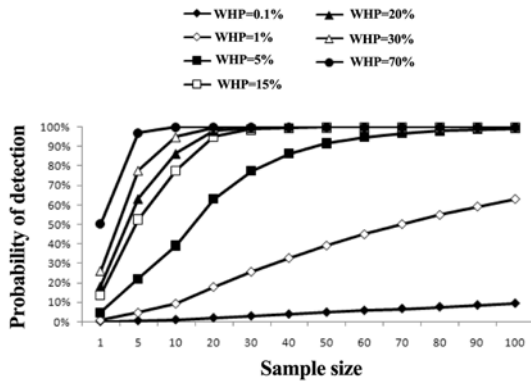


Fig. 5. Probability of detecting infection with a test sensitivity of 95% as a function of 10% sampling fraction from a population size by prevalence (from 0.1% to 70%).

는 각각 59두와 9두가 필요할 것으로 계산되었다. 한편 유한모집단으로부터 추출한 표본검사서 전 두수 음성일 때 유병율의 최대 추정치는 SF가 클수록 검사음성일 때 음성결과에 대한 신뢰도가 높은 것으로 나타났다(Fig. 3). Table 2와 Fig. 4는 표본에서 양성개체가 검출되지 않을 때 유병율 추정치를 요약한 것으로 SF가 클수록 전 두수 음성결과일 때 유병율 추정치에 상대적으로 높은 신뢰도를 부여할 수 있는 것으로 나타났다. 진단검사가 완벽하지 않다는 가정에서 이를테면 민감도가 95%인 검사법으로 모집단에서 10% 표본을 선발하여 검사할 경우 감염을 검출할 확률은 표본크기가 증가하거나 우군 내 유병율이 높을수록 증가하였다(Fig. 5).

고 찰

국가 단위 가축방역사업의 목적은 질병이나 병원체를 조기에 검출하여 확산을 차단함으로써 질병에 의한 피해를 최소화하고 궁극적으로는 해당 질병을 박멸하는 것이다. 매년 반복되는 연속적인 방역사업의 효율성을 극대화하기 위해서는 질병별 발생상황에 대한 정확한 역학적 정보를 수집하고 신규로 입수된 정보를 신속히 보급하는 동시에 사업계획을 적절히 수정하는 유기적인 시스템이 작동되어야 한다 [4, 13]. 감시시스템을 평가할 때 사용되는 지표는 매우 많지만 표본추출 전략과 더불어 민감도는 감염을 신속히 검출하기 위한 시스템에서는 필수적인 요소다 [9, 17]. 본 연구에서는 농림수산식품부의 방역사업계획에 의거 소의 혈청검진 사업으로 지정된 일부 질병에 대하여 감염을 검출할 확률을 평가함으로써 감시시스템을 구축하는데 필요한 적정수준의 표본크기에 대한 정보를 얻고자 수행하였다.

소류코시스, 요네병, 아까바네병의 경우 Table 1에 제

시된 유병율로 우군 내에 감염이 존재한다고 가정할 때 이를 검출할 확률이 95% 이상을 유지하는 반면 소결핵병은 64.2%에 불과하다. 그 이유는 소결핵병은 감염된 농장이라고 하더라도 농장 내 유병율이 매우 낮고 또한 진단검사의 민감도가 높지 않기 때문이다. 유병율이 낮을 때 양성우를 검출하기 위하여 전국단위에서 광범위하게 표본추출 계획을 수립하면 특정 지역에서 검사로 선발되는 두수가 줄어들기 때문에 감염을 검출할 기회도 감소한다. 또한 감시시스템에 투입되는 예산이 한정되어 있기 때문에 비용을 고려한다면 소결핵병의 발생 위험에 근거하여 기존의 발생지역이나 위험요인에 노출될 기회가 상대적으로 높은 우군에 대하여 목적표본추출을 계획하는 것이 타당하다 [9, 13, 15, 17]. 이 경우 표본크기를 크게 증가시키지 않으면서 양성우를 검출할 능력이 증가하여 시스템의 목적을 충분히 달성할 수 있을 것으로 판단되며, 이는 Fig. 1에서 모두가 유병율이 낮을수록(0.1%) 표본크기를 2배 증가시키면 감염을 검출할 확률도 약 2배로 증가하기 때문이다. 유한모집단으로부터 추출한 표본검사서 전 두수 음성일 때 유병율의 최대 추정치는 SF가 클수록 검사음성일 때 음성결과에 대한 신뢰도가 증가한다. 예를 들어 모집단크기가 80두 일 때 이 중 10%의 표본($n=8$)을 검사하여 모두 검사음성일 때 이 모집단에서 양성개체의 최대수는 90% 신뢰수준에서 20두, 95% 신뢰수준 24두, 99% 신뢰수준에서는 34두로 계산된다. 동일한 모집단에서 40%의 표본($n=32$)에서 모두 음성이라면 각각의 신뢰수준에서 양성개체의 최대수는 5, 6, 9두가 되어 이러한 결과를 시사한다.

유병율 1%와 표본크기 10, 20, 30, 40, 50두에서 감염을 검출할 확률은 검사의 민감도가 완벽한 경우 9.6%, 18.2%, 26.0%, 33.1%, 39.4%로 계산된다. 반면에 검사의 민감도를 95%로 가정할 경우 SF 10%일 때 0.99%, 1.98%, 2.95%, 3.91%, 4.87%, SF 50%일 때 6.2%, 12.1%, 17.6%, 22.7%, 27.5%, SF 100%일 때 25.9%, 45.1%, 59.2%, 69.8%, 77.6%로 계산된다. 이러한 결과는 유병율이 낮은 질병에 대하여 감염을 검출할 기회를 높이는 전략을 강구할 필요가 있음을 의미한다. 이러한 목적으로 단일검사의 민감도가 낮을 경우 하나 이상의 검사를 수평검사(parallel testing)로 사용함으로써 민감도를 높이는 방안이 가장 현실적인 대안이고, SF를 증가시키거나 혈청검진사업의 목적을 장기적인 관점에서 비발생 증명으로 전환하는 방안도 고려할 필요가 있다. 유병율이 낮은 질병에 대한 혈청검사서 흔히 양성시료가 검출되지 않는 경우가 있는데 이러한 결과는 모집단에 실제로 감염이 존재하지 않거나 현행 감시시스템이 감염을 검출할 능력이 낮기 때문에 초래될 수 있는 상황이다. 표본크기가 충분하지 못하면 양성시료가 검출되지 않은 상황에서도

유병율은 높게 추정되지만 표본크기가 충분하면 음성결과에 대하여 유병율은 낮게 추정된다. 이를테면 20개의 표본에 대한 검사결과 모두 음성일 때 95% 신뢰수준에서 유병율의 최대 추정치는 13.9%인 반면 표본크기 1,000에서는 0.3%에 불과하다. 따라서 감시시스템의 민감도를 구축할 때 해당 질병의 역학적 특성, 진단검사의 특성, 투입되는 예산과 인력 등을 종합적으로 고려하여 적정수준의 표본크기를 계획하는 것이 중요하다.

결 론

혈청학적 감시시스템을 구축할 때 적정 표본크기를 계획하는 것은 감염을 검출하는데 필수적이며 특히 유병율이 낮은 질병일수록 표본크기를 충분히 증가시켜야 시스템의 목적을 달성할 수 있다. 예를 들어 소결핵병 유병율 0.2%를 95% 신뢰수준에서 검출하기 위해서는 59두가 필요하며 이는 국내 평균사육두수를 감안하면 대부분의 농장에서 전두수를 검사해야 하는 수준이다. 따라서 양성우를 검출하기 위하여 전국적으로 표본검사 계획하는 것보다는 발생위험 수준에 근거하여 목적표본 추출을 수립하는 것이 바람직한 것으로 분석되었다. 표본크기는 음성결과에 대한 신뢰도와 관련이 있어 표본크기가 충분하지 못하면 음성결과에 대해서도 유병율은 상대적으로 높게 추정되며, 감염을 검출하는데 필요한 최소 표본크기는 유병율이 낮을수록 급격히 증가한다. 따라서 감시시스템을 구축할 때에는 진단검사의 특성, 적정 표본크기, 유병율, 모집단크기, 신뢰수준 등 다양한 정보에 근거하여 비용 효율적인 대안을 강구하는 것이 바람직하다.

감사의 글

본 연구는 2009년도 국립수의과학검역원 용역연구사업(과제번호: Z-AD17-2009-09-01)으로 수행되어 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 국립수의과학검역원. '09년 1/4분기 가축전염병중앙예찰협의회 자료. pp. 26-29, 국립수의과학검역원, 안양, 2009.
2. 국립수의과학검역원. '07년 2/4분기 가축전염병중앙예찰협의회 자료. pp. 53-62, 국립수의과학검역원, 안양, 2007.
3. 조윤상. 국내 소결핵의 발생 및 연구동향. 한국수의공중보건학회지 2007, 31, 61-67.
4. Cameron A, Gardner I, Doherr MG, Wagner B.

Sampling considerations in surveys and monitoring and surveillance systems. In: Salman MD (ed.). Animal Disease Surveillance and Survey Systems: Methods and Applications. pp. 47-66, Blackwell, Ames, 2003.

5. Cannon RM. Sense and sensitivity designing surveys based on an imperfect test. Prev Vet Med 2001, 49, 141-163.
6. Cannon RM, Roe RT. Livestock Disease Surveys: A Field Manual for Veterinarians. pp. 14-17, Australian Government Publishing Service, Canberra, 1982.
7. Collins MT, Sockett DC, Ridge S, Cox JC. Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for Johne's disease. J Clin Microbiol 1991, 29, 272-276.
8. Collins MT, Wells SJ, Petrini KR, Collins JE, Schultz RD, Whitlock RH. Evaluation of five antibody detection tests for diagnosis of bovine paratuberculosis. Clin Diagn Lab Immunol 2005, 12, 685-692.
9. Doherr MG, Audigé L. Monitoring and surveillance for rare health-related events: a review from the veterinary perspective. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 2001, 356, 1097-1106.
10. Francis J, Seiler RJ, Wilkie IW, O'Boyle D, Lumsden MJ, Frost AJ. The sensitivity and specificity of various tuberculin tests using bovine PPD and other tuberculins. Vet Rec 1978, 103, 420-425.
11. Monaghan ML, Doherty ML, Collins JD, Kazda JF, Quinn PJ. The tuberculin test. Vet Microbiol 1994, 40, 111-124.
12. Monke DR, Rohde RF, Hueston WD, Milburn RJ. Estimation of the sensitivity and specificity of the agar gel immunodiffusion test for bovine leukemia virus: 1,296 cases (1982-1989). J Am Vet Med Assoc 1992, 200, 2001-2004.
13. Morignat E, Ducrot C, Roy P, Baron T, Vinard JL, Biacabe AG, Madec JY, Bencsik A, Debeer S, Eliazsewicz M, Calavas D. Targeted surveillance to assess the prevalence of BSE in high-risk populations in western France and the associated risk factors. Vet Rec 2002, 151, 73-77.
14. Morris RS. Information systems for animal health: objectives and components. Rev Sci Tech 1991, 10, 13-23.
15. Stärk KD, Regula G, Hernandez J, Knopf L, Fuchs K, Morris RS, Davies P. Concepts for risk-based surveillance in the field of veterinary medicine and veterinary public health: review of current approaches.

- BMC Health Serv Res 2006, **6**, 20.
16. **Sweeney RW, Whitlock RH, Buckley CL, Spencer P, Rosenberger AE, Hutchinson LJ.** Diagnosis of paratuberculosis in dairy cattle, using enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies against *Mycobacterium paratuberculosis* in milk. *Am J Vet Res* 1994, **55**, 905-909.
 17. **Thurmond MC.** Conceptual foundations for infectious disease surveillance. *J Vet Diagn Invest* 2003, **15**, 501-514.
 18. **Trono KG, Pérez-Filgueira DM, Duffy S, Borca MV, Carrillo C.** Seroprevalence of bovine leukemia virus in dairy cattle in Argentina: comparison of sensitivity and specificity of different detection methods. *Vet Microbiol* 2001, **83**, 235-248.