

경북지방 개 브루셀라병 다두 발생농장의 혈청학적 및 세균학적 조사

김성국¹ · 서희진* · 김순태 · 장영술 · 조민희
경상북도가축위생시험소

(접수 2010. 2. 19, 게재승인 2010. 6. 11)

Serological and bacteriological study on canine brucellosis in the large kennel farms in Gyeongbuk province

Seong-Guk Kim¹, Hee-Jin Seo*, Soon-Tae Kim, Young-Sul Jang, Min-Hee Jo

Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Eastern Branch Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory

(Received 19 February 2010, accepted in revised from 11 June 2010)

Abstract

Canine brucellosis is a contagious disease of the reproductive tract that cause mainly abortion and infertility in dog. A serological and bacteriological survey was conducted for breeding kennels which were suffered from frequent outbreak of canine brucellosis in Gyeongbuk province in 2009. Among 138 samples, 45 serum samples were sero-positive. *Brucella canis* was isolated from 30 blood samples of the seropositive cases, and from 2 samples of 62 sero-negatives. The biochemical properties of 32 isolates were characterized with no production of H₂S, no fermentation of carbohydrates, hydrolyzation of urea, and development of thionin dye medium. At amplification of *BCSP* and *16S-rRNA* gene using PCR, 711bp and 905bp DNA fragments were detected in agarose. Three tandem repeat pattern was shown in genotyping by Multi-locus VNTR assay (MLVA).

Key words : *Brucella canis*, Serological, Bacteriological, Genotyping

서 론

개 브루셀라병은 *Brucella (B.) canis*에 의해 발생하는 전염성 질병으로 암컷에서 말기 유산과 수컷에서는 부고환염, 고환의 위축, 불임을 일으키나 대부분 불현성 감염으로 감염개체는 뚜렷한 증상을 나타내지 않는다(Alton 등, 1975; Beran, 1994; Carter 등, 1995; Timoney 등, 1988). 이 병은 1960년대 미국 중서부의 비글견 번식농장에서 개의 전염성 유산질환으로 맨 처음 소개되어 1966년에 유산태아에서 원인체를 균분리한

이후 Carmichael과 Bruner (1968a, 1968b) 및 Carmichael과 Kenney (1970)에 의해 *B. canis*로 명명되었다(Morisset과 Spink, 1969).

*B. canis*는 10% CO₂ 하에서 성장이 억제되고 집락은 점조성을 나타내고 erythritol에 대한 이용능이 없고 H₂S를 생성하지 않고 urea에 대한 반응시간이 다른 브루셀라균에 비해 빠르게 일어난다(Corbel과 Brinley-Morgan, 1984).

*B. canis*는 개와 야생 개과에 제한적으로 감수성을 가지고 실험적으로 고양이, 토끼, 영장류에 감수성이 있으며 사람의 경우 실험실 종사자나 개 사육주 등에 감염된 예가 보고되고 있으나 다른 브루셀라균에 비해

*Corresponding author: Seong-Guk Kim, Tel. +82-53-326-0013,
Fax. +82-53-326-1066, E-mail. ksk8719007@korea.kr

병원성이 낮은 편이다(Spink, 1970; Morisset과 Spink, 1969).

*B. canis*는 눈, 외부생식기, 구강 점막부를 통해 감염되며 감염 인접부의 림프절을 통해 침입한 균은 혈관으로 이동하여 주 표적장기인 생식기관에 정착하여 주기적으로 혈액내 출현한다(Carmichael과 Kenney, 1970; Pickeril 1970). 개브루셀라균은 실험적 감염에서 최장 5년까지 균혈증 상태를 유지하면서 질 분비물, 정액, 요 등을 통해 다량의 균을 배출하는 것이 보고된 바 있다(Freeman, 1971).

개 브루셀라병은 미국, 캐나다, 특히 중남미 지역에서 발생보고가 많으며(Wanke, 2004), 전 세계적으로 발생하고 있고 국내에서는 박 등(1984)이 야외견에서 *B. canis*의 분리를 보고한 이래 애견번식장 및 가정내 사육견에서의 발생 및 조사가 있다.

이에 저자들은 2009년 경북지방 한 애견번식장에서 브루셀라병의 집단발생을 확인하고 혈청학적 및 세균학적 검사를 실시하였으며, 분리균의 유전학적 형질을 시도하여 역학적 상관관계를 분석하였기 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

농장현황 및 시료채취

2009년 6월 경북 경주 소재의 한 애견번식장에서 유산이 발생하여 경북가축위생시험소에 검사를 의뢰한 바 사육두수 71두 중 자견을 제외하고 1차 항체검사에서 검사두수 64두 중 33두에서 항체가 확인되었다. 이 농장은 2002년부터 현 지역에서 애견번식업을 시작한 이후 외부 입식없이 자체 번식을 실시하고 사육장은 철망케이지 형태로 중부 이외에는 서로 접촉이 거의 없으며 말티즈, 푸들 등 소형애완견을 주로 사육하고 있었다.

2008년 2월경 유기견 1두를 농장내 입식하게 되었으며 당해 9월경에 최초 임신말기의 유산이 발생하여 10두가 유산을 하여 질병검사를 의뢰하였다.

항체 및 세균분리를 위해 요추피 정맥에서 혈액 2ml을 채취하였으며 혈액응고 후 혈청을 분리하여 항체검사를 실시하고 나머지 혈괴는 세균분리에 이용하였다.

혈청학적 검사

30일 간격으로 3차에 걸쳐 혈청검사를 실시하였으며 Kim 등(2007)이 사용한 면역크로마토그래피법에 의한 신속 개 브루셀라 항체진단키트(Bionote Co, Korea)를 이용하여 다음과 같이 실시하였다. 먼저 혈청을 검사용 device에 1방울 점적하고 10초간 정치시킨 후 혈청희석액을 120~150 μ l를 추가로 첨가한 후 10분간 정치하고 대조선과 검사선에 보라색 선의 유무를 확인하였고 검사선이 나타날 경우 대조선 대비 검사선의 진하기에 따라 양성, 의양성으로 분류하여 기록하였다.

균분리 및 동정

균분리를 위해 혈청분리 후 남은 혈괴를 Alton 등(1975)의 방법에 따라 제조한 브루셀라 선택증균액체 배지 10ml에 넣은 후 -20 $^{\circ}$ C 하에서 3시간 동안 정치한 다음 1주일간 37 $^{\circ}$ C 진탕하면서 배양을 실시하였다. 증균배양 후 멸균 면봉으로 증균액을 취하여 혈액배지에 도말하고 37 $^{\circ}$ C, 호기 상태에서 5일간 배양하면서 균의 유무를 확인하였다. 국립수의과학검역원에서 분양받은 *B. canis* RM6/66주와 분리주에 대하여 Alton 등(1975)의 방법에 따라 집락의 형태, 그람염색, 색소성장능, API kit (BioMerieux, France)를 이용하여 생화학적 성장검사를 실시하고 정 등(1998)과 Romero 등(1995)의 방법에 따라 중합효소 연쇄반응법(polymerase chain reaction, PCR)으로 특이유전자 부위의 증폭

Table 1. Isolation of *B. canis* with serological and bacteriological test

Periods	No. of examination	Blood culture		
		Positive	Presumptive	Negative
1st	64	12/13 ^a	13/20 ^b	NT ^c /31
2nd	44	3/4	2/5	2/35
3rd	30	-/3	-/-	-/27
Total	138	15/20	15/25	2/93

^aNo. of isolation/No. of serological positive

^bNo. of isolation/No. of serological presumptive

^cNot tested

Table 2. Biochemical characteristics of *B. canis* isolated (n=32)

Substrates	Strain tested	
	RM666	<i>B. canis</i> (%)
Oxidase	Positive	32 (100)
Catalase	Positive	32 (100)
CO ₂ requirement	Negative	-
Urease	Positive	32 (100)
Production of H ₂ S	Positive	-
Growth on thionin*	Positive	32 (100)
Fuchsin	Negative	-
β-galactosidase	Negative	-
Decarboxylase test	Negative	-
Citrate	Negative	-
Indole	Negative	-
Tryptophane deaminase	Negative	-
Voges-Proskauer (VP)	Positive	32 (100)
Gelatinase	Negative	-
Ferment of carbohydrates	Negative	-
Reduction of nitrate	Positive	32 (100)
Production of indole	Negative	-
Hydrolysis of esculin	Negative	-

*Dye concentration, 1 : 50,000

Table 3. Genotyping by MLVA described repeat unit of isolates (n=25)

MLVA type	Repeat unit	No. of isolates
BC1	4 4 10 9 7 4 18 9 3 1	1
BC2	4 4 11 9 7 4 18 9 3 1	22
BC3	4 4 11 9 8 4 18 9 3 1	2

유무를 확인하여 *B. canis*를 동정하였다.

MLVA에 의한 유전형별

유전형별을 위해 Al Dahouk 등(2007)이 이용한 MLVA 16 VNTR loci 중에서 BRUCE 04, 07, 09, 11, 16, 18, 19, 21, 30, 43 등 10개의 VNTR을 선별하여 각 VNTR별로 분리주를 PCR기법에 따라 증폭한 후 전기영동하여 증폭크기를 측정하고 균주별 반복지수로 변환하여 분석프로그램으로 분석하여 덴드로그램을 작성하여 이미 발생하여 균분리한 경북지역 애견사육농

장과의 역학적 상관관계를 비교분석하였다.

결 과

항체 및 균분리

발생농장 사육견을 대상으로 3차에 걸쳐 혈청검사 및 균분리를 실시한 결과는 Table 1과 같다. 1차 검사에서 64두 중 33두에서 항체가 검출되었으며 항체 양성 33두를 대상으로 균분리를 실시한 결과 25두에서 균이 분리되었다. 1차 검사에서 혈청검사 양성인 33두의 항체검출 개체를 도태하고 신규입식 및 자견 등 동거견 44두를 대상으로 30일 후 2차 혈청검사 및 균분리를 실시한 결과 9두에서 항체가 검출되었고 44두를 대상으로 세균배양을 실시한 결과 항체양성견 5두와 항체음성견 2두에서 균이 분리되었다.

30일 후 신규입식 9두와 동거견 21두를 대상으로 3차 혈청검사 및 세균배양검사를 실시한 결과 3두에서 항체 양성반응을 나타내었으나 균은 분리되지 않았다.

생화학적 성상 및 PCR 결과

이 실험에서 분리한 *B. canis*의 생화학적 성상을 검사한 결과는 Table 2와 같다. 분리주 32주는 CO₂ 요구성이 없고, H₂S를 생성하지 않으며, catalase, oxidase, urease에 양성반응을 보였고, 당 분해능이 관찰되지 않았으며, decarboxylase 음성, thionin 첨가배지에서 성장되었으나 fuchsin 첨가배지에서는 성장하지 않았다.

분리주 32주와 표준균주 *B. canis* RM6/66을 대상으로 31kDa-BCSP 유전자와 16S-rRNA에 대하여 PCR기법을 이용하여 특이부위의 밴드검출을 확인한 결과는 Fig. 1과 같다. 특이 유전자 부위를 증폭하여 평판한천상에서 전기영동을 실시하여 자외선 조사하에서 관찰한 결과 야외분리주와 표준균주는 동일한 크기의 증폭

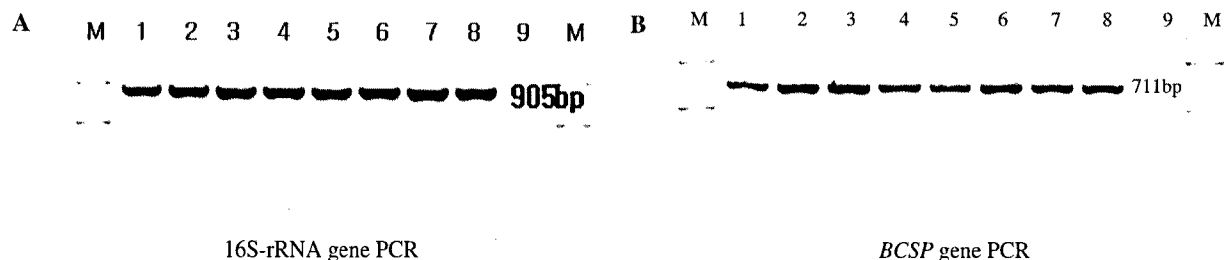


Fig. 1. Detection pattern of *B. canis* by PCR using 16S-rRNA gene (A) and BCSP gene (B). Lane 1, 11; 100bp DNA ladder size marker, lane 2~8; *B. canis* isolates, lane 9; *B. canis* RM6/66, lane 10; Distilled water.

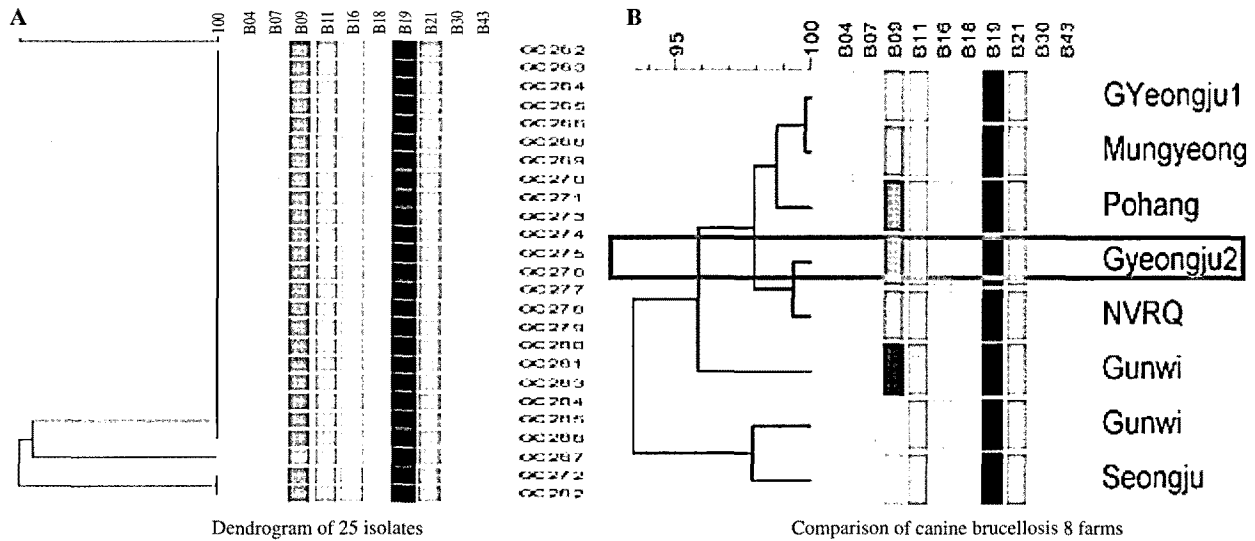


Fig. 2. Dendrogram by character type for genotyping of *B. canis* using 10-MLVA.

대를 나타내었다.

MLVA에 의한 유전형별

1차 검사에서 분리된 25주를 대상으로 MLVA를 이용한 유전학적 상관관계를 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 25주는 3개의 유전형으로 분류되었으며, 경북지역 이미 발생한 애견농장에서 분리한 *B. canis*와 비교한 결과 유전적으로 차이가 있는 것으로 확인되었다.

25주를 10 VNTR별 반복지수로 변환하여 형별한 결과는 Table 3과 같다. VNTR의 다양성을 비교한 결과 BRUCE09와 BRUCE16의 VNTR에서 반복지수의 차이가 있으며 감별력이 있는 것으로 확인되었다.

고 찰

개 브루셀라병은 *B. canis* 감염에 의한 임신 말기의 유산과 불임, 장기간의 균혈증을 특징으로 하는 개의 전염성질환이다. *B. canis*는 *B. suis*와 생화학적 성상이 유사하고 개과 이외의 숙주에서 감수성이 없는 것으로 알려져 있다. 국내에서는 박 등이 처음으로 *B. canis*의 분리를 보고한 이래 문 등(1999)이 전남지역 집단유산이 발생한 애완견 번식장에서 균 분리를 보고한 바 있고, 박과 오(2001)은 대구지역 애완견 번식장과 가정 사육견을 대상으로 혈청학적 및 균분리 성적을 보고한 바 있으며, 장 등(2000)은 전남 진도군 사육 진돗개를 대상으로 혈청검사 및 세균학적 검사성적을 보고하였

고, 김 등(2003a, 2003b)은 집단 애견번식장을 대상으로 혈청학적 검사 및 균 분리를 시도하여 분리균을 대상으로 약제감수성시험을 보고한 바 있다. 또한 김 등(2007)은 경북지역 애견농장에서 분리한 *B. canis*를 대상으로 pulsed field gel electrophoresis (PFGE)를 이용한 유전형별을 시도하여 보고한 바 있다.

발생농장의 1차 혈청 및 세균검사 결과 64두 중 33두(51.6%)의 항체양성과 25두(75.8%)에서 균분리되어 높은 분리율을 나타내었다. 이러한 성적은 문 등(1999)이 전남지역 애견번식장에서 62두 중 33두(53.2%)의 항체양성과 20두(61%)의 균분리를 나타낸 것과 비교할 때 항체양성율은 유사한 성적을 나타내었으나 균분리율에서 다소 높은 것으로 조사되었으며 균분리 재료로서 전혈 이외에 혈피를 이용한 선택배지를 이용한 증균배양법을 이용하는 것도 가능하리라고 생각된다.

박과 오(2001)은 발생농장의 세균학적 검사에서 혈청반응 음성인 1두에서 균분리를 보고한 바 있으며 Keid 등(2009)은 혈청검사와 세균배양 및 PCR에 의한 항원검사를 비교 실시하여 항체미검출 개체에서의 균분리를 언급하면서 항원검사의 중요성을 언급하였으며, 문 등(1999)은 인공감염 실험에서 감염 3~4주째에 균분리가 된다고 보고하면서 항체가 160배 이상일 경우에 균분리율이 높다고 보고하였다. 이번 조사에서도 2차 세균검사 시에 항체 음성견을 대상으로 균분리를 시도한 바 2두에서 균이 분리되어 항체음성견의 경우에도 균혈증 상태로 존재하며 외부로 균을 지속적으로 배출하는 것이 가능하므로 개브루셀라병 검사시에

혈청검사 및 세균학적 배양실험을 병행하여 실시하는 것이 초기에 브루셀라병을 근절할 수 있는 방안이라고 생각된다.

Flores-Castro와 Segura (1976) 그리고 Flores-Castro 등(1977)은 멕시코시티의 유기견 59두를 대상으로 혈청 및 세균학적 실험을 실시하여 22두(37.3%)에서 항체 양성을 나타내고 그 중 5두에서 균분리가 된 점을 고려하여 멕시코시티에서의 높은 개브루셀라병 감염율과 관계가 있다고 보고하였다. 발생농장의 경우 애견 번식장을 시작하면서 외부 농장에서 신규 입식한 예가 없으나 역학 조사시 유기견 1두를 임의로 입식하고 유산 등의 증상을 나타낸 것으로 보아 감염된 유기견의 입식이 본 질병 발생의 주요 원인으로 생각되며 유기견들에 대한 질병검사 및 방지대책을 수립하여야 할 것으로 생각된다.

브루셀라균은 유전적으로 매우 밀접한 근연의 관계를 나타내므로 질병발생의 추적 및 역학적 상황을 조사하기 위해 PFGE를 포함한 여러 유전학적 분석방법들 중 대부분은 동일한 유전적인 형태를 나타내는 것으로 조사되고 있다(Verger 등, 2000). 그러나 유전학적 분석기법의 발달과 더불어 브루셀라균을 대상으로 유전학적 형별을 위한 많은 시도가 이루어지고 있으며 김 등(2007)은 경북지방에서 분리한 *B. canis*를 대상으로 PFGE를 실시한 결과 크게 2가지 유형으로 분류된다고 하였으며, Bae와 Lee(2009)은 IRS-PCR법을 이용하여 국내 *B. canis* 분리주를 대상으로 형별을 시도한 바 4개의 유형으로 분류하였고, 김 등(2003a)은 특정유전부위의 PCR 증폭 후 제한효소를 처리하여 RFLP에 의한 *B. canis*의 유전적 양상을 조사한 바 있다.

이 실험에서는 브루셀라균에 존재하는 VNTR을 이용하여 PCR에 의한 증폭 후 반복염기서열 부위의 변화를 지수형태로 전환하여 유전형별을 시도하였고 발생농장에서 분리한 25주는 3가지의 반복지수 유형으로 표현되었다. 10개의 VNTR 중 BRUCE 09와 16의 VNTR에서 차이가 확인되었으며 유전형별은 BC2형이 가장 많은 것으로 조사되었다. 타 농장 분리주와 비교한 결과 모두 다른 유형으로 분류된 점으로 보아 브루셀라균의 유입경로 등 역학적 상관관계 분석을 위해 MLVA법을 이용한 실험실 수준에서의 방법이 가능하고 MLVA를 위한 브루셀라균종간의 적절한 VNTR의 선택과 관련된 실험이 추가로 실시되어야 할 것으로 생각된다.

결 론

2009년 경북 경주 소재 애견번식장에서 발생한 개 브루셀라병의 혈청학적 및 세균학적 조사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 혈청검사 138두 중에서 45두 항체 양성을 나타내었고 30두에서 균분리가 되었고 항체음성 62두 중 2두에서 균분리가 되었다.

2. 분리주는 CO₂ 비요구성, 당 분해능이 없으며, decarboxylase 음성, catalase, oxidase, urease 양성, citrate, nitrate, indol, H₂S 생성 음성이었고 thionin색소 성장능이 확인되었다.

3. PCR 기법을 이용한 BCSP와 16S-rRNA유전자 부위의 증폭을 통하여 분리주는 전기영동상에서 동일한 증폭대를 나타내어 *B. canis*로 동정되었다.

4. MLVA를 이용하여 유전학적 상관관계를 조사한 결과 유전적으로 근연의 관계에서 3가지 유형으로 분류되었으며, 타 발생농장의 분리주와 비교한 결과 유전적으로 차이가 있는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

- 김성국, 김영환, 홍현표, 엄현정, 장성준, 조민희, 이상수. 2007. 경북지역 애견번식장에서 분리한 *Brucella canis*의 생화학 특성 및 PFGE 양상. 한국가축위생학회지 30(3): 363-374.
- 김종완, 이영주, 탁연빈. 2003a. 집단 개사육농장에서의 canine brucellosis 발생 및 PCR-RFLP를 이용한 분리주의 특성 조사. 대한수의학회지 43(1): 67-75.
- 김종완, 이영주, 탁연빈. 2003b. 국내분리 *Brucella canis*의 항균제 감수성. 한국임상수의학회지 20(1): 86-90.
- 문진산, 오기석, 박인철, 강병규, 이채용, 정석찬, 박용호, 신쌍재. 1999. 전남지방의 소형견 번식장에서부터 발생한 canine brucellosis. 대한수의학회지 39(6): 1099-1105.
- 박용호, 강승원, 주이석, 김상희, 박정문. 1984. 개 브루셀라 진단액 생산 기초시험 및 항체조사. 가축위생연구소 시험보고: 94-98.
- 박창규, 오지연. 2001. 대구지역 개의 *Brucella canis* 감염에 대한 세균학적 및 혈청학적 조사. 대한수의학회지 41(1): 67-71.
- 장지훈, 이정치, 이채용, 김상기, 이정길. 2000. 진돗개에서 발생한 한 브루셀라병. 한국임상수의학회지 17(2): 321-326.
- 정석찬, 정병열, 우승룡, 조동희, 김종엽, 김우택, 이정미, 박용호, 백병걸. 1998. 종모우 정액중 *Brucella*균 신속 검출을 위한 PCR기법 개발. 대한수의학회지 38(2): 345-352.
- Al Dahouk S, Flèche PL, Nöckler K, Jacques I, Grayon M,

- Scholz HC, Tomaso H, Vergnaud G, Neubauer H. 2007. Evaluation of *Brucella* MLVA typing for human brucellosis. *J Microbiol Methods* 69(1): 137-145.
- Alton GG, Jones LM, Pietz DE. 1975. Laboratory techniques in brucellosis. *Monogr Ser World Health Organ.* 1975; (55): 1-163.
- Bae DH, Lee YJ. 2009. Occurrence of canine brucellosis in Korea and polymorphism of *Brucella canis* isolates by infrequent restriction site-PCR. *Korean J Vet Res* 49(2): 105-111.
- Beran GW. 1994. *Handbook of Zoonosis*. 2nd ed. CRC Press, London: 9-39.
- Carmichael LE, Bruner DW. 1968a. Characteristics of a newly recognized species of brucella responsible for infectious canine abortion. *Cornell Vet* 48(4): 579-592.
- Carmichael LE, Kenney RM. 1968b. Canine abortion caused by *Brucella canis*. *J Am Vet Med Assoc* 152(6): 605-616.
- Carmichael LE, Kenney RM. 1970. Canine brucellosis: The clinical disease, pathogenesis, and immune response. *J Am Vet Med Assoc* 156(12): 1726-1734.
- Carter GR, Chengappa MM, Roberts AW, Claus GW, Rikihisa Y. 1995. *Essential of veterinary microbiology*. 5th ed. Williams & Willkins, Baltimore: 199-204.
- Corbel MJ, Brinley-Morgan WJ. 1984. Genus *Brucella* Meyer and Shaw 1920, 173^{AL}. In: *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol 1. Krieg NR, Holt JG, Murray RGE, Brenner DJ, Bryant MP, Holt JG, Krieg NR, Moulder JW, Pfenning N, Sneath PHA, Staley JT. Eds., Williams & Wilkins, Baltimore / London: 377-388.
- Flores-Castro R, Segura R. 1976. A serological and bacteriological survey of canine brucellosis in Mexico. *Cornell Vet* 66(3): 347-352.
- Flores-Castro R, Suarez F, Ramirez-Pfeiffer C, Carmichael LE. 1977. Canine brucellosis: Bacteriological and serological investigation of naturally infected dogs in Mexico city. *J Clin Microbiol* 6(6): 591-597.
- Freeman A. 1971. Canine Brucellosis. *J Am Vet Med Assoc* 159(1): 6-7.
- Keid LB, Soares RM, Vasconcelos SA, Megid J, Salgado VR, Richtzenhain LJ. 2009. Comparison of agar gel immunodiffusion test, rapid slide agglutination test, microbiological culture and PCR for the diagnosis of canine brucellosis. *Res Vet Sci* 86(1): 22-26.
- Kim JW, Lee YJ, Han MY, Bae DH, Jung SC, Oh JS, Ha GW, Cho BK. 2007. Evaluation of immunochromatographic assay for serodiagnosis of *Brucella canis*. *J Vet Med Sci* 69(11): 1103-1107.
- Morisset R, Spink WW. 1969. Epidemic canine brucellosis due to a new species, *Brucella canis*. *Lancet* 2(7628): 1000-1002.
- Pickerrill PA. 1970. Comments on epizootiology and control of canine brucellosis. *J Am Vet Med Assoc* 156(12): 1741-1742.
- Romero C, Gamazo C, Pardo M, López-Goñi I. 1995. Specific detection of *Brucella* DNA by PCR. *J Clin Microbiol* 33(3): 615-617.
- Spink WW. 1970. Comments on canine brucellosis due to *Brucella canis*. *J Am Vet Med Assoc* 156(12): 1734-1736.
- Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE. 1988. *Hagan and Brunner's Microbiology and infectious disease of domestic animals*. 8th ed. Comstock Pub Ass, Ithaca and London:135-152.
- Verger JM, Grayon M, Cloeckaert A, Lefèvre M, Ageron E, Grimont F. 2000. Classification of *Brucella* strains isolated from marine mammals using DNA-DNA hybridization and ribotyping. *Res Microbiol* 151(9): 797-799.
- Wanke MM. 2004. Canine brucellosis. *Anim Reprod Sci* 82-83: 195-207.