

돼지 brucellosis에 대한 항체가 조사

허진·백병길*

전북대학교 수의과대학

(접수 2011. 5. 12, 게재승인 2011. 6. 1)

Serosurvey for antibodies against brucellosis in pigs

Jin Hur, Byeong-Kirl Baek*

Department of Public Health, College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

(Received 12 May 2011, accepted in revised from 1 June 2011)

Abstract

In order to investigate serum antibodies for detection of brucellosis in pigs, a total of 1208 sera were tested by Rose Bengal test (RBT), the standard tube agglutination test (STAT) and competitive ELISA (cELISA). The sera were collected from pigs of Gyeonggi, Chungnam, Chungbuk, Jeonnam and Jeonbuk, provinces during the period 2002 to 2004. All the sera were screened by RBT, and were confirmed by STAT and cELISA. Among 1208 sera, 26 sera (2.2%) were positive in screening test. All the 26 positive sera were positive by STAT, while all the sera were negative by cELISA. On the basis of this study, farmed pigs may be exposed to *Brucella* species. Furthermore, these results suggest that establishment of diagnoses for detection of porcine brucellosis is necessary.

Key words : *Brucella* species, Rose Bengal test, Competitive ELISA, Pigs

서론

인수공통전염병 중 하나인 브루셀라병은 세계 여러 나라에서 유행하고 있으며 *Brucella* (*B.*) *abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* 그리고 *B. canis* 등이 원인균으로 알려져 있다(Timoney 등, 1988; OIE, 1992). 브루셀라병은 소와 돼지 그리고 개 등에서 유산 및 불임증과 같은 번식장애를 일으키는 질병일 뿐만 아니라 중요한 인수공통전염병으로 사람에서는 관절염, 골수염, 고환염, 피부염 등의 임상 증상을 일으키는 것으로 보고되고 있다(Lambert와 Amerault, 1962; Berger 등, 1981; Timoney 등, 1988; OIE, 1992). 돼지에 있어 브루셀라병은 1914년 Traum이 이 균을 분리하여 최초로 보고하였으며(Traum, 1914), Huddleston (1931)이 *B. suis*를 분리 동정하였고,

돼지에서 브루셀라병 원인균으로 최종 확정되었다(Straw 등, 1999). 사육 돼지와 야생 멧돼지 등에서 함께 발병하고 있는 돼지 브루셀라병은 감염 돼지에서 유산, 불임, 관절염, 후구마비, 보행 장애 등을 일으켜 결국은 생산성 감소와 같은 경제적 손실을 가져 온다(van der Leek 등, 1993; Mason과 Fleming, 1999). 더욱이 *B. suis*는 사람에서 브루셀라병의 주요한 원인체 중 하나로 *B. abortus*보다도 더 강한 병원성이 인정(Fox와 Kaufmann, 1977)되고 있는 공중보건학상 중요한 질병으로 최근 미국에서는 돼지에서 브루셀라병을 근절하기 위한 예방 대책을 정부차원에서 연구를 수행하고 있는 실정이다(USDA, 1998).

오늘날 양돈업은 젓소와 한우 그리고 양계업과 더불어 국내 축산업 발전에 중추적인 역할을 담당하고 있다. 하지만 국내에서는 1963년 돼지에서의 브루셀라병의 발생 보고(박, 1963)를 제외하고는 감염실태, 원인균

*Corresponding author: Byeong-Kirl Baek, Tel. +82-63-270-2559, Fax. +82-63-270-3780, E-mail. baekbk@chonbuk.ac.kr

분리 그리고 혈청학적인 진단연구 등과 같은 돼지에서 브루셀라병 근절에 관한 연구는 활발히 수행되지 않고 있는 실정이다. 이에 연자(백 등, 2000) 등은 돼지에서 브루셀라병에 대한 진단방법 비교 및 면역형성 능력 등을 알아보기 위해 *B. suis*, *B. abortus*, *B. melitensis*를 불활화 하여 돼지에 접종 한 다음 immunoblot방법과, standard tube agglutination test (TAT), Rose Bengal test (RBT)로 측정하여 면역형성 정도를 관찰한데 이어서 2002년부터 2004년까지 경기도와 충남·북 그리고 전남·북 일대에서 채취된 혈청을 대상으로 RBT와 STAT 그리고 competitive ELISA (cELISA)를 이용하여 브루셀라병에 대한 항체 역가 조사를 실시함으로써 돼지에서 감염 실태를 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

진단 항원

국립수의과학검역원으로부터 분양받은 *B. abortus* 1119-3를 이용하여 RBT와 STAT 진단용 항원을 백 등 (2000)이 기술한 방법에 따라 제조하여 실험에 사용하였다. ELISA는 Svanova사 Brucella-Ab C-ELISA 진단 kit (Svanova Biotech AB, Sweden)을 사용하였다.

가검혈청

혈청은 2002년부터 2004년까지 경기도, 충남·북 그리고 전남·북 등지의 양돈장에서 혈액을 채취하여 -70°C에 보관하여 실험에 사용하였다.

진단방법

RBT는 국가 공인 진단법에 따라 실험을 수행하여,

Table 1. The standard tube agglutination test results against brucellosis positive and negative swine sera diagnosed by Rose Bengal test

The standard tube agglutination test	Rose Bengal test	
	Positive	Negative
Positive	26	0
Negative	1,182	1,182
Total	1,208	1,182

항체 역가를 측정한 후 그 결과를 판독하였으며, STAT는 국가 공인 진단법과 USDA (1998)에서 제안하는 방법에 따라 실험을 수행하였으며 판독은 USDA에서 추천하는 방법에 따라 판독하였다(USDA, 1998). cELISA는 제조사의 방법에 따라 실험을 수행한 후 제조사에서 정한 기준에 따라 그 결과를 판독하였다. 즉, kit에 동봉된 음성 표준 혈청을 포함한 가검 혈청에 대한 흡광도치를 동봉된 양성 표준 혈청에 대한 흡광도치로 나눈 후 100을 곱한 다음 나온 수치(percent inhibition; PI)를 100에서 빼준 수치가 30보다 크면 양성으로, 30 이하면 음성으로 판정하였다.

결 과

BRT와 STAT 결과 비교

야외에서 소 브루셀라병 진단에 사용되고 있는 RBT와 STAT을 이용하여 항체역가를 비교한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이, 1,208 두 중 RBT에서 양성으로 판정된 26두 모두 STAT에서 양성으로 관찰되었고 음성으로 판정된 1,182두 모두 STAT에서도 음성으로 관찰되었다.

Table 2. cELISA results against brucellosis positive and negative swine sera diagnosed by Rose Bengal test

cELISA	Rose Bengal test	
	Positive	Negative
Positive	0	0
Negative	1,208	1,182
Total	1,208	1,182



Fig. 1. Distribution of the percentage inhibition (PI) in cELISA against 26 brucellosis positive sera determined by Rose Bengal test.

BRT와 cELISA 결과 비교

RBT와 cELISA를 이용하여 항체역가를 비교한 결과는 Table 2와 Fig. 1에서 보는 바와 같았다. 즉, RBT에서 양성으로 판정된 26두와 음성으로 판정된 1,182두 모두 cELISA에서 음성으로 관찰되었다.

고 찰

돼지 브루셀라병은 주로 *B. suis*에 의해 감염되어 유산, 고환염, 때로는 국소 화농을 일으켜 후구마비를 일으킨다. 또한, 돼지는 *B. melitensis*나 *B. abortus*에 의해 감염되기도 하지만 임상 증상 발병 예는 드문 것으로 보고되고 있다(OIE, 1992; Mason과 Fleming, 1999). 브루셀라균은 자궁분비물, 유즙, 정액으로 분비되며, 림프절과 번식과 관련 있는 다양한 조직에서 분리되며, 유산은 감염동물에서 한 번만 일어나는 것으로 보고되고 있다. 또한, 브루셀라균은 관절염 병변에서도 분리되는 것으로 알려져 있다(OIE, 1992). *B. suis*는 *B. melitensis*와 더불어 사람에게서 병원성이 높으므로 이 균에 노출될 수 있는 환경에서 일하는 사람은 특별한 주의가 필요하다(OIE, 1992). 오스트레일리아의 Queensland 주민 34명의 환자 중 11명의 혈액 검사에서 *B. suis*가 분리되었음이 보고되었으며(Robson 등, 1993), 양돈장에서 종사한 102명의 수의사와 191명의 목부를 대상으로 브루셀라병 감염 조사를 실시한 결과 102명의 수의사 중 4.5%에서 양성 반응이 관찰되어(Elbers 등, 1999), 돼지에서의 브루셀라병 또한, 공중보건학상 매우 중요한 질병으로 생각되고 있다.

브루셀라병의 근절은 브루셀라에 걸렸다고 확인 혹은 의심되는 개체를 격리하고 감염 동물을 살처분하거나 또는 예방백신을 접종하여 예방할 수 있는 것으로 알려져 있다(OIE, 1992). 이를 위해서는 정확한 진단에 의한 확정 판정이 무엇보다 중요하다고 할 수 있다. 돼지에서 브루셀라병으로 의심이 가는 동물은 혈청학적인 수단과 가능하다면 배양법으로 판정하여야 한다(OIE, 1992). 즉, 브루셀라는 세포 내 기생 세균으로 균의 존재는 추정적인 진단이다. 다른 감염 병원체도 비슷한 형태를 보이고 있으므로 결과의 해석 시 주의가 필요하다. 따라서 혈청학적인 실험은 좀 더 믿음직한 추정적인 진단을 할 수 있으며 원인균 분리는 진단을

확정할 수 있다(OIE, 1992). 돼지에서 개별적으로 브루셀라병을 혈청학적으로 진단한다는 것은 어려운 일로 알려져 있는데 이는 이종특이 항체 때문에 감염된 돼지라도 어떠한 진단 방법으로도 검출되지 않는 경우가 종종 있는 것으로 보고되고 있다(Deyoe, 1969; OIE, 1992; Ferris 등, 1995). 하지만 Buffered brucella antigen test (Rose bengal test 또는 buffered plate agglutination test)가 *B. suis*의 감염이 의심되는 곳의 혈청을 대상으로 선별 검사(screening test)로 가장 많이 이용되고 있다(OIE, 1992; USDA, 1998).

돼지에서 브루셀라병을 정확하게 진단하기 위한 많은 연구가 진행되고 있다. 즉, Ferris 등(1995)은 39개의 자연 감염 목장의 221두의 돼지를 대상으로 STAT로 진단한 결과 83%에서 양성 반응이 관찰되었으며 이 양성 돼지는 CFT에서는 57%의 민감도가 관찰되었다. 한편, rivanol test에서 음성으로 판정된 95%의 혈청은 STAT에서는 62%가 음성으로 관찰되었다. 221두 중에서 46두에서 *B. suis*가 분리되었으며 이 중 8두는 6가지 검사 방법에서 음성으로 관찰되어 민감도는 STAT가 가장 좋았으며 특이도는 rivanol test가 가장 좋은 것으로 보고하였다. 또한, 돼지에서 혈청학적 진단 방법과 균 분리에서 모두 음성의 결과가 관찰되었다고 해서 브루셀라균에 감염이 되지 않았다고 단정할 수 없다는 연구 결과(Payeur 등, 1990; OIE, 1992)를 접할 수 있었으며, 돼지에서 *B. suis*가 분리되었음에도 혈청학적 진단법에서는 음성인 결과가 나왔다고 보고한 연구 결과(Deyoe, 1967; Ferris 등, 1995) 또한 접할 수 있었다. 한편, 돼지 16두에 인공적으로 *B. suis*를 감염시켜 40일 후에 5가지 혈청학적 진단법(the particle concentration fluorescence immunoassay, card test, complement fixation test, STAT, Rivanol test)에서 2마리가 음성으로 관찰된 데 반해 조직검사서 균이 분리되었다는 보고를 접할 수 있었다(Payeur 등, 1990). Ferris 등(1995)은 *B. suis*에 감염된 401두와 음성인 14,037두를 대상으로 진단법 간에 민감도와 특이도를 각각 비교 분석하여 보았다. 그 결과 평판응집반응(plate agglutination test)에서는 민감도와 특이도가 각각 77.1%와 98%도 관찰되었고 항보체 혈청을 음성으로 한 CFT에서는 93.3%와 95.5%로 관찰되었으며, indirect ELISA에서는 94%와 97.9%였고 Fluorescence polarization assay에서는 민감도와 특이도가 각각 93.5%와 97.2%로 관찰되었다고 보고하였다.

하지만 여러 나라에서 집단 돼지에서 screening test로 RBT를 주로 활용하고 있으며 STAT, CFT 또는 rivanol

test 등으로 확인 실험을 통해 최종 결정되고 있다(OIE, 1992; USDA, 1998). 이에 이번 연구에서 국내 양돈장에서 채취한 1,208두의 혈청을 가지고 RBT로 screening test를 실시한 결과 26두에서 양성반응이 관찰되었고 이 양성 혈청을 USDA (1998)에서 추천하는 대로 STAT로 확인 실험을 수행한 결과, 26두 모두 양성으로 관찰되었다. 비록 돼지에서 균분리 동정이 동시에 수행되지는 않았지만, 이 결과는 국내 양돈장에서 사육되고 있는 돼지가 브루셀라균에 노출되었을 가능성이 있음을 간접적으로 시사하는 결과라고 생각된다.

최근 소에서 브루셀라병 진단에 있어 screening test인 RBT보다 민감도에서 같거나 그 이상이며 동시에 최종 확인 진단으로 종종 사용되고 있는 특이도가 높은 CFT의 결과와 비슷하거나 좀 더 정확하다고 알려진 *B. abortus* lipopolysacchide를 항원으로 한 indirect ELISA 및 cELISA (Vallat, 2004; 허 등, 2007)는 돼지에서 개별 돼지에서 브루셀라병 진단을 위해 그리고 많은 혈청을 screening test를 위해 개발 중에 있다(Vallat, 2004). 하지만 국내에서 RBT와 STAT에서 양성으로 판정된 26두의 혈청 모두 cELISA에서 음성으로 관찰되었다. 이는 국내 돼지에서 브루셀라병을 진단하기 위해서는 좀 더 방대한 가검물을 대상으로 균분리와 동시에 세계 여러 나라에서 소나 돼지 등에서 브루셀라병을 진단하기 위해 사용되고 있는 여러 혈청학적 진단법으로 비교 분석하여 국내 사정에 적합한 진단법을 개발하거나 진단법을 확립할 필요성이 강력하게 요구되고 있음을 보여주는 결과라고 생각된다.

결론

국내 양돈장에서 채취한 1,208두의 혈청에서 RBT, STAT cELISA를 이용하여 브루셀라병에 대한 항혈청을 검사하여 돼지에서의 감염 실태를 조사하였다. 1,208두의 돼지 혈청을 대상으로 RBT를 이용하여 브루셀라병 검출을 위한 screening test를 실시한 결과 2.2%의 혈청에서 양성반응이 관찰되었다. Screening test에서 양성으로 판정된 26두의 혈청을 STAT로 확정 실험한 결과 screening test에서 양성인 혈청 모두 STAT에서 양성으로 판정되었다. 하지만 screening test에서 양성인 26두의 혈청 모두 cELISA에서 PI 30% 이하로 음성으로 판정되었다.

이 같은 결과는 국내 양돈장의 돼지가 *Brucella suis*에

노출되었을 수도 있음을 보여주는 결과이며 동시에 국내 돼지에서 브루셀라병을 근절하기 위해 정확한 감염 여부를 판정할 수 있는 진단법 확립이 필요함을 확인할 수 있었다.

참고 문헌

- 박동진. 1963. 축산시험장에서 발생한 돈의 유산증에 대한 병원학적 조사 연구. 가축위생연구보고 9(1): 34-39.
- 백병걸, 임경환, 허진, 최민준. 2000. 돼지에 있어서 불활화 *Brucella suis* 접종에 따른 면역 반응. 한국수의공중보건학회지 24(2): 133-142.
- 허진, Ibulaimu Kakoma, 정재명, 이현진, 백병걸. 2007. 소 브루셀라병의 혈청학적 진단법 비교실험. 한국가축위생학회지 30(3): 385-391.
- Berger GW, Guill MA, Goette DK. 1981. Cutaneous lesions in brucellosis. Arch Dermatol 177(1): 40-42.
- Deyoe BL. 1967. Pathogenesis of three strains of *Brucella suis* in swine. Am J Vet Res 28(125): 951-957.
- Elbers AR, Vecht U, Ostehaus AD, Groen J, Wisselink HJ, Tielens MJ. 1999. Low prevalence of antibodies against the zoonotic agents *Brucella abortus*, *Leptospira* spp., *Streptococcus suis* serotype II, hantavirus, and lymphocytic choriomeningitis virus among veterinarians and pig farmers in the southern part of the Netherlands. Vet Q 21(2): 50-54.
- Ferris RA, Schoenbaum MA, Crawford RP. 1995. Comparison of serological tests and bacteriologic culture for detection of brucellosis in swine from naturally infected herds. J Am Vet Med Assoc 207(10): 1332-1333.
- Fox MD, Kaufmann AF. 1977. Brucellosis in the United States, 1965-1974. J Infect Dis 136(2): 312-316.
- Huddleston IF. 1931. Differentiation of the species of the genus *Brucella*. Am J Public Health Nations Health 121(5): 491-498.
- Lambert G, Amerault TE. 1962. Comparative study of three serological tests for detecting the response in cattle to virulent *Brucella abortus*. Am J Vet Res 23: 529-533.
- Mason RJ, Fleming PJ. 1999. Serological survey for *Brucella* antibodies in feral pigs from eastern Australia. Aust Vet J 77(5): 331-332.
- OIE. 1992. Manual of standard for diagnostic tests and vaccines, Second edn., Office International Des Epizooties. Paris: 260-274.
- Payeur JB, Miller CD, Hennager SG, Ewalt DR. 1990. Comparison of five serologic tests and culture for brucellosis in swine experimentally infected with *Brucella suis* biovar 1. Proc Annu Meet US Anim Health Assoc 94: 147-152.
- Robson JM, Harrison MW, Wood RN, Tilse MH, McKay AB, Brodribb TR. 1993. Brucellosis: re-emergence and chang-

- ing epidemiology in Queensland. *Med J Aust* 159(3): 153-158.
- Straw BE, Mengeling WL, Taylor DJ. 1999. *Disease of swine*. Iowa State University Press. Ames Iowa: 385-393.
- Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE. 1988. *Hagan and Bruner's microbiology and infectious disease of domestic animals*. 8 eds, Cornell University Press. Ithaca: 135-152.
- Traum J. 1914. Report to the chief, Bureau of Animal Industry. USDA: 30
- USDA. 1998. *Swine brucellosis control/eradication*. The US Department of Agriculture (USDA). Washington: 5-25.
- Vallat B. 2004. *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)*. 5eds. Office International Des Epizooties. Paris: 409-438.
- van der Leek ML, Becker HN, Humphrey P, Adams CL, Belden RC, Frankenberger WB, Nicoletti PL. 1993. Prevalence of *Brucella* sp. antibodies in feral swine in Florida. *J Wild Dis* 29(3): 410-415.