大韓獸醫學會誌 (2014) 第 54 卷 第 4 號
Korean J Vet Res(2014) 54(4) : 197~201
http://dx.doi.org/10.14405/kjvr.2014.54.4.197

<원 저>

국내 가축에서 브루셀라병에 대한 혈청학적 모니터링

성소라 · 김지연* · 허 문 · 이기찬 · 강성일 · 이향근 · 조효림 · 이진주 · 정석찬
농림축산검역본부 세균질병과 브루셀라병 OIE 표준실험실

(접수: 2014년 7월 23일, 수정: 2014년 9월 16일, 게재승인: 2014년 10월 13일)

Serological monitoring on brucellosis in livestock of Korea

So-Ra Sung, Ji-Yeon Kim*, Moon Her, Kichan Lee, Sung-Il Kang, Hyang-Keun Lee, Hyo Rim Cho, Jin Ju Lee, Suk Chan Jung

OIE Reference Laboratory for Brucellosis, Bacterial Disease Division, Animal and plant Quarantine Agency, Anyang 430-757, Korea

(Received: July 23, 2014; Revised: September 16, 2014; Accepted: October 13, 2014)

Abstract : In Korea, brucellosis has been reported periodically in cattle and rarely in dogs; however, it has not previously been screened in domestic animals such as elk, pigs and goats. To investigate the serological prevalence, serum samples were taken from the aforementioned animals annually during 2007-2013 and screened by the rose-bengal test (RBT) or modified RBT, after which positive sera were evaluated by the standard tube agglutination test (STAT). Finally, RBT and STAT-positive sera were confirmed by competitive-ELISA. *Brucella abortus* biovar 1 was isolated from three elk that were shown to be positive serologically in 2008. There was no evidence of brucellosis in pigs. Based on serological monitoring and investigation of etiological agents, there is no evidence of outbreak of brucellosis in elk, pigs or goats of Korea since 2008. However, the possibility for brucellosis from cattle to affect these other livestock exists; therefore, extensive and continuous serological monitoring is required to maintain their brucellosis-free status.

Keywords : brucellosis, competitive-ELISA, rose-Bengal test, serological test, standard tube agglutination test

서 론

브루셀라병은 *Brucella*(*B.*) 속 균에 의해 소, 돼지, 산양, 면양, 개 등에서 발생하는 법정 제2종 가축전염병으로 *B. abortus*(소), *B. canis*(개), *B. ovis* 및 *B. melitensis*(양 및 염소), *B. suis*(돼지), *B. neotomae*(설치류), *B. microti*(들쥐), *B. inopinata*(사람), *B. pinnipedialis* 및 *B. ceti*(해양 포유류) 등 총 10종의 속 균이 보고되었다 [2, 5, 16]. 브루셀라에 감염되면 잠복기가 길게는 약 6개월에서 1년간 지속하기도 하며, 가축에 감염되면 주로 유산 및 불임, 유방염, 고환염, 전립선염 등 번식장애를 일으키는 질병이다. 또한, 사람도 감염되는 인수공통전염병으로 공중보건상 매우 중요한 질병이다 [6, 9, 13, 14].

브루셀라병의 진단은 유산 태아, 태반과 양수 등의 시료와 살처분 시의 림프조직 등 조직 시료로부터 직접 원인균을 분리하는 방법과 브루셀라 항원에 대한 특이 세포 매개성 또는 혈청학적 반응을 이용하여 검사할 수 있다. 그러나 브루셀라와 형태학적으로 유사한 *Coxiella burnetii*, *Chlamydia*나 면역학적으로 교차반응을 일으키는 *Yersinia enterocolitica*와 같은 균들과의 감별진단에 대해 유의해야 할 필요가 있다. 현재 세계동물보건기구(OIE)에서 권장하는 혈청학적 진단 방법에는 rose-bengal test(RBT), modified-RBT, standard tube agglutination test(STAT), fluorescence polarization assay (FPA), indirect-enzyme linked immunosorbent assay(I-ELISA), competitive-ELISA(C-ELISA) 등이 있다 [1, 4, 10, 12, 13]. 우리나라는 "결핵병 및 브루셀라병 방역 실시요령"에 따라 1차 스크린 검사로 RBT를 사용하고, RBT에서 양성 진단을 받은 개체에 대하여 2차 확인 검사인 STAT 및 C-ELISA를 사용하고 있다 [10].

소 브루셀라병에 대한 강력한 방역정책 및 정기검진 사업

*Corresponding author
Tel: +82-31-467-1829, Fax: +82-31-467-1778
E-mail: kimjiyeon75@korea.kr

을 통해 발병률은 2006년 이후로 매년 감소하여 2013년에는 기준 우군 양성률이 0.07%로 브루셀라 청정국 선언 기준 이하의 낮은 수준으로 떨어졌지만, 소 이외에 사슴, 돼지, 염소 등 다른 가축에 대한 브루셀라병 발생률 조사 결과는 많지 않은 실정이다. 따라서 소를 비롯한 다른 축종에서도 브루셀라병 청정국 지위 획득을 위해서는 지속적인 모니터링과 검색사업이 필수적이다. 또한 소를 사육하는 농가나 인근 농가에서 다른 축종도 함께 사육할 경우 상호 간 감염이 전파될 위험성이 있다. 따라서, 본 연구는 지난 7년간의 혈청학적 모니터링을 통해 소 이외의 국내 다른 축종에서의 브루셀라병에 대한 현황을 조사하여, 앞으로 소뿐만 아니라 다른 축종에서도 브루셀라병 청정국 지위를 획득하기 위한 기초 자료로 활용하고자 수행하게 되었다.

재료 및 방법

가검 혈청

혈청 시료는 2007년부터 2013년까지 강원도, 경기도, 충청도, 경상도, 전라도, 대구광역시, 울산광역시 등지에서 사슴 1,391두, 돼지 8,509두, 흑염소 2,946두의 혈액을 채취하여 2,210 × g에서 30분간 원심분리를 해서 혈청을 분리한 후, 56°C 항온수조에서 30분간 비동화하여 RBT 또는 modified-RBT, STAT 및 C-ELISA에 이용하였다.

진단 항원

RBT와 modified-RBT는 대성미생물연구소에서 제조한 *B. abortus* 1119-3 배양균액이 8% 농도로 첨가된 로즈벵갈 평판용 브루셀라 진단액을 사용하였고, STAT는 농림축산검역본부에서 제조한 *B. abortus* 1119-3 배양균액이 4.5% 농도로 첨가된 브루셀라 tube 진단액을 사용하였다. C-ELISA는 Brucella-Ab C-ELISA kit(Svanova, Sweden)를 사용하였다.

진단 방법

RBT는 사슴과 돼지의 가검혈청 30 μL와 동량의 로즈벵갈 평판용 브루셀라 진단액을 평판 위에 떨어뜨린 후 진단액과 혈청을 충분히 혼합한 다음 실온에서 4분간 반응시킨 후 응집의 유무 및 상태에 따라 결과를 판독하였다. 염소의 경우 혈청은 75 μL, 진단액은 25 μL를 사용하는 modified-RBT 방법을 이용하여 실험 후 결과를 판정하였다.

STAT는 브루셀라 tube 진단액을 0.5% phenol saline으로 1/100 농도로 희석한 후, 시험관에 2 mL씩 분주하였다. 이후 가검 혈청을 농도가 각각 1/25, 1/50, 1/100, 1/200, 1/400이 되도록 80, 40, 20, 10, 5 μL씩 넣은 후 37°C 배양기에서 48~72시간 감작시킨 후 응집 상태와 상층액의 탁도를 대조군과 비교하여 결과를 관찰하였다. 응집 결과에 따라 50배 미만에서 응집이 생기거나 없는 경우는 음성, 50배 이상 100배 미만에서 상층액이 반투명하고 응집이 생기는 경우는 의양성, 100배 이상에서 상층액이 투명하고 응집이 생기는 경우는 양성으로 판정하였다.

C-ELISA는 Brucella-Ab C-ELISA kit(Svanova)의 실험 방법에 따라 수행한 후 제조사의 기준에 따라 결과를 PI (percent inhibition, %)로 판정하였다. PI(%) = 100 – {(sample mean OD × 100) / conjugate control mean OD}로 계산하였으며, PI가 30% 이상이면 양성, 30% 미만이면 음성으로 판정하였다.

브루셀라 분리 및 동정

브루셀라 분리를 위해서 림프절 등 조직 시료를 잘라 표면을 알코올램프로 순간 화기 멸균시킨 후 막자사발에 넣어 멸균 PBS 1 mL와 혼합하여 조직을 분쇄하였다. 분쇄한 조직 시료는 멸균 면봉을 이용하여 modified *Brucella* selective medium(MBS)과 소 혈청이 5% 첨가된 tryptic soy agar (Becton, Dickinson and Company, USA)에 도말하여 37°C 배양기에서 CO_2 농도 5% 조건으로 3~4일간 배양하였다. 추가적인 균 배양을 위해서 분쇄한 조직 시료를 tryptic soy broth(Becton, Dickinson and Company, USA) 4 mL에도 증균 배양하였다 [5]. MBS 배지에서 자란 균 집락을 그람 염색법에 따라 수행하여 형태와 염색 상태를 관찰하였고, oxidase, catalase 및 urease test를 수행하여 분리주를 동정하였다 [3]. 브루셀라로 동정된 분리주는 CO_2 요구성, H_2S 생산능력, 20 μg/mL 농도의 basic fushcin 및 thionin 첨가에 따른 성장 능력과 A monospecific serum과 M monospecific serum(Animal Health and Veterinary Laboratories Agency, UK)의 응집반응 결과를 바탕으로 biovar를 규명하였다.

결 과

사슴에서의 검색 결과

2008년부터 2013년까지 경기, 충남, 충북지역에 위치한 총 32농가에서 1,391두의 사슴 혈청을 채취하여 혈청학적 검사를 수행하였다. 2008년 200두 중 RBT에서 18두(9.0%)가 양성으로 판정되었고, 그중 STAT에서 2두(1.0%)가 의양성, 5두(2.5%)에서 양성 결과를 얻었으며 그중 6두(3.0%)가 C-ELISA에서 양성으로 판정되었다. 이들로부터 유방상 림프절, 슬와 림프절, 비장, 질 분비물 등의 시료를 채취하여 브루셀라 분리를 시도한 결과 3마리에서 소 브루셀라(*B. abortus* biovar 1)를 동정하여 보고하였다 [5].

2009년에는 544두 중 RBT에서 18두(3.3%)가 양성, 그중 STAT에서 4두(0.7%)가 의양성으로 판정되었지만 최종 C-ELISA에서는 모두 음성으로 판정되었다. 2010년에는 420두 전체가 RBT에서 음성으로 판정되었고, 2011년에는 35두 중 RBT에서 2두(5.7%)가 양성으로 판정되었지만, STAT에서는 모두 음성으로 판정되었다. 2013년에는 192두 전체가 RBT에서 음성으로 판정되었다(Table 1).

돼지에서의 검색결과

돼지는 2007년부터 2013년까지 경기, 충남, 전남, 전북,

Table 1. Results on serological diagnosis of elks

Year	Number of farms	Test sera	Number of positive sera (%)			
			RBT	STAT		C-ELISA
				±	+	
2008	3	200	18 (9.00)	2 (1.00)	5 (2.50)	6 (3.00)
2009	5	544	18 (3.30)	4 (0.70)	0	0
2010	10	420	0	0	0	0
2011	2	35	2 (5.70)	0	0	0
2013	12	192	0	0	0	0
Total	32	1,391	38 (2.70)	6 (0.43)	5 (0.35)	6 (0.43)

RBT: rose-bengal test, STAT: standard tube agglutination test, C-ELISA: competitive-ELISA.

Table 2. Results on serological diagnosis of pigs

Year	Number of farms	Test sera	Number of positive sera (%)			
			RBT	STAT		C-ELISA
				±	+	
2007	6	1,301	155 (11.90)	29 (2.20)	2 (0.15)	0
2008	118	1,610	30 (1.90)	10 (0.60)	0	0
2009	116	1,690	516 (30.50)	5 (0.30)	1 (0.05)	2 (0.10)
2010	76	970	292 (30.10)	3 (0.30)	0	0
2011	22	473	8 (1.70)	7 (1.50)	0	0
2012	54	1,156	108 (9.30)	9 (0.80)	0	0
2013	58	1,309	50 (3.80)	7 (0.50)	0	0
Total	450	8,509	1,159 (13.60)	70 (0.82)	3 (0.03)	2 (0.02)

경남, 경북, 강원지역에 위치한 450농가에서 채취한 총 8,509두의 혈청으로 검사를 수행하였다. 2007년 1,301두 중 155두(11.9%)가 RBT에서 양성, 그중 STAT에서 29두(2.2%)가 의양성, 2두(0.3%)가 양성 반응을 보였지만, C-ELISA에서는 모두 음성으로 판정되었다. 2008년 1,610두 중 RBT에서 30두(1.9%)가 양성, STAT에서 10두(0.6%)가 의양성으로 판정되었고, C-ELISA에서는 모두 음성으로 판정되었다. 2009년 1,690두 중 RBT에서 516두(30.5%)가 양성, STAT에서 5두(0.3%)가 의양성, 1두(0.05%)가 양성 반응을 보였고, 그중 C-ELISA에서 2두(0.1%)가 양성으로 판정되어 해당 농장과 농장에서 도축장으로 출하된 돼지에서 조직 및 혈액샘플을 채취하여 추가 조사한 결과 모두 음성으로 판정되어 돼지 2마리에 대한 양성 반응은 비특이 반응으로 추정되었다(data not shown). 2010년에는 총 970두 중 292두(30.1%)가 RBT에서 양성, 그중 3두(0.3%)가 STAT에서 의양성 반응을 보였고, C-ELISA에서는 모두 음성이었다. 2011년 473두 중 RBT에서 8두(1.7%)가 양성, STAT에서 7두(1.5%)가 의양성이었고, C-ELISA에서는 모두 음성으로 판정되었다. 2012년 1,156두 중 108두(9.3%)가 RBT에서 양성, 그중 9두(0.8%)가 STAT에서 의양성으로 판정되었고, C-ELISA에서는 모두 음성으로 판정되었다. 2013년 1,309두 중 RBT에서 50두(3.8%)가 양성, 그중 7두(0.5%)가 STAT에서 의양성 반응을 보였지만, C-ELISA에서는 모두 음성으로 판정되었다(Table 2).

염소에서의 검색결과

염소는 2007년부터 2013년까지 경기, 충남, 충북지역의 총 638 농가에서 채취한 2,946두의 혈청으로 실험하였다. 2007년 360두가 모든 진단법에서 음성으로 판정되었고, 2008년 326두 중 45두(13.8%)가 RBT에서 양성을 보였고, STAT및 C-ELISA에서는 모두 음성 반응을 보였다. 2009년 720두 중 82두(11.4%)가 RBT에서 양성으로 판정되었고, 그중 3두(0.4%)가 STAT에서 의양성 반응을 보였지만 최종 C-ELISA에서는 모두 음성으로 판정되었다. 2010년 160두 중 RBT에서 1두가 양성 반응을 보였지만, STAT와 C-ELISA에서 모두 음성으로 판정되었다. 2011년에는 총 364두 중 RBT에서 11두(3.0%)가 양성 반응을 보였지만, STAT에서는 음성으로 판정되었고 C-ELISA에서도 역시 음성으로 판정되었다. 2012년 500두 중 9두(1.8%)가 RBT에서 양성으로 판정되었지만 STAT와 ELISA에서는 모두 음성으로 판정되었다. 2013년 516두 중 9두(1.7%)가 RBT에서 양성 반응을 보였지만 STAT와 ELISA에서는 모두 음성으로 판정되었다(Table 3).

Table 3. Results on serological diagnosis of goats

Year	Number of farms	Test sera	Number of positive sera (%)			
			RBT	STAT		C-ELISA
				±	+	
2007	4	360	0	0	0	0
2008	69	326	45 (13.8)	0	0	0
2009	180	720	82 (11.4)	3 (0.4)	0	0
2010	40	160	1 (0.63)	0	0	0
2011	91	364	11 (3.0)	0	0	0
2012	125	500	9 (1.8)	0	0	0
2013	129	516	9 (1.7)	0	0	0
Total	638	2,946	157 (5.3)	3 (0.1)	0	0

Table 4. Comparison on serological diagnosis of elks, pigs and goats

Livestock	Number of farms	Test sera	Number of positive sera (%)			
			RBT	STAT		C-ELISA
				±	+	
Elk	32	1,391	38 (2.70)	6 (0.43)	5 (0.35)	6 (0.43)
Pig	450	8,509	1,159 (13.60)	70 (0.82)	3 (0.03)	2 (0.02)
Goat	638	2,946	157 (5.30)	3 (0.10)	0	0

사슴과 돼지, 염소의 검색결과 비교

그 결과 사슴 총 1,391두 중 38두(2.7%)가 RBT에서 양성 반응을 보였고, 그중 STAT에서 6두(0.43%)가 의양성, 5두(0.35%)가 양성 반응을 보여 C-ELISA를 진행한 결과 6두(0.43%)가 양성으로 판정되었다. 돼지는 총 8,509두 중 1,159두(13.6%)가 RBT에서 양성으로 판정되었고, 그중 STAT에서 70두(0.82%)가 의양성, 3두(0.03%)가 양성 반응을 보였고, C-ELISA에서 2두(0.02%)가 양성을 보였지만 해당 농가에 대한 정밀조사 결과 브루셀라병 발생의 징후는 찾을 수 없었다. 염소는 총 2,946두 중 RBT에서 157두(5.3%)가 양성 반응을 보였고, STAT에서 3두(0.1%)가 양성 반응을 보여 C-ELISA를 진행했지만 모두 음성으로 판정되었다 (Table 4).

고 찰

브루셀라병은 감염될 경우, 축산 농가와 국가에 큰 경제적 피해를 입힐 뿐만 아니라 사람에게도 전염되는 인수공통전염병으로서 공중보건학적으로도 매우 중요하며, 동물이나 식용, 비식용 동물성 생산품의 국제간 교역에서 중요한 전염병이다 [13].

Brucella 속 균은 보통 숙주 선호성(host-preference)이 있는 것으로 알려졌지만 다른 가축과 동물에도 교차 감염이 종종 발생하기도 한다 [7, 15]. 그러므로 한 농가에서 여러 축종을 사육할 경우 사육장 분리를 통해 축종 간 접촉을 예방하고 방역에 각별한 주의가 필요하다. 브루셀라병은 소를 비롯하여 다른 축종에도 전염될 수 있으므로 철저한 방역관리 체계 등 대책을 확립해 농가의 재산 피해 및 국가의 보상금 지급으로 인한 직접적인 경제적 손실과 환경오염, 연관 산업의 판매 및 수요 감소 등의 간접적인 피해도 예방해야 한다.

본 연구에서는 2008년부터 2013년까지 1,391두의 사슴 혈청과 2007년부터 2013년까지 총 8,509두의 돼지 혈청 그리고 총 2,946두의 염소 혈청을 대상으로 RBT 또는 modified-RBT, STAT와 C-ELISA를 수행하여 국내 다른 축종에서의 브루셀라병에 대한 발병률과 발생 현황을 조사하였다.

RBT 결과를 보면 전체 두수 중 사슴은 2.7%, 염소는 5.3%의 양성율을 보인 반면에 돼지는 그보다 2.5~5배 높은 13.6%의 양성율을 보였다(Table 4). 그 이유는 *Yersinia enterocolitica* O : 9 등과 같은 세균과 혈청학적 교차반응에 의한 것으로 추정되며, 또 한편으로는 축종의 특성상 지방 함유량이 높은 돼지 혈청과 진단액을 혼합했을 때 실제 양성 반응과 유사한 형태의 응집이 관찰되는데, 이런 가 양성 반응을 양성으로 오인하여 판정하였기 때문에 양성율이 높아진 것으로 판단된다. 따라서 돼지와 같은 축종 특성을 가진 혈청에 대한 실험 결과를 판정할 때는 경험이 풍부한 실험자의 조언을 얻어 실험 결과의 오차를 줄일 수 있도록 해야 한다.

2008년에 사슴 3두에서 *B. abortus* biovar 1이 분리되었으며, 국내 소에서 분리되는 균 대부분과 동일한 생물형인 biovar 1인 것으로 보아 브루셀라병에 감염된 소와 사슴의 직접 또는 간접적인 접촉으로 인해 전파된 것으로 추정할 수 있다 [5]. 이는 소에서 다른 가축으로의 전염 가능성을 보여

주는 동시에 서로 다른 축종 간에도 전염될 가능성을 보여주는 것이기 때문에 축종 간 분리 사육의 필요성을 다시 한 번 시사해 준다. 이러한 축종 간 전염의 예방을 위해서는 분리 사육뿐만 아니라 양성 발병 농가에서 유산 시 배출되는 태반이나 유산 태아를 취급한 농장주나 관련 종사자의 장화, 장갑 등에 의해서도 브루셀라가 전파될 수 있으므로 양성 농가를 다녀왔을 경우에는 관련 기구의 소독 또는 교체 후 다른 축종의 축사에 출입하여야 한다. 그리고 축산 관련 기구 등은 가급적 타 농가와 공동 사용을 금지하고, 축사를 정기적으로 소독하고 세척하여야 한다. 또한 브루셀라병뿐만 아니라 다른 전염병의 전파 방지를 위해서라도 기본적인 방역수칙을 준수해야 한다 [7, 8, 11, 15].

이번 연구 결과에서는 사슴, 염소나 돼지에서 숙주 선호성을 보이는 *B. melitensis* 및 *B. suis*는 검출되지 않았으며, 2008년 이후 국내에서 사육되고 있는 사슴, 돼지, 염소에서 브루셀라가 분리되지 않았고 혈청학적으로도 세계동물보건기구(OIE)에서 제시하고 있는 축군(herd)의 99.8% 이상, 개체별 99.9% 이상 음성으로 국제 기준(Terrestrial Animal Health Code)에 부합되어 이들 가축에 대해서는 브루셀라병 청정국 선언이 가능할 것으로 생각된다. 하지만 브루셀라병이 발생하고 있는 소에서 이들 축종으로 전염될 가능성이 있으므로 한 농가에서 여러 축종을 사육할 경우 철저한 분리 사육을 통해 가축 간의 접촉을 차단하고, 브루셀라병을 전파할 수 있는 개, 고양이, 야생동물이 축사 내로 접근하지 않도록 관리하여야 한다. 또한 농장주와 관련 종사자들에게 충분한 교육 기회를 제공하여 방역수칙에 대해 정확히 인지시키고 농장을 관리할 수 있도록 하여야 한다.

우리나라에서 소 이외에 다른 축종에서도 브루셀라병 근절 선언을 위해서는 미국의 경우와 같이 발생 빈도에 따라 권역을 구분하여 차등 방역을 하고, 발생 빈도가 높은 지역은 가축의 이동을 제한하고 정기검진을 시행하여 브루셀라병 근절에 한발 더 다가서게끔 유도해야 한다. 또한 브루셀라병이 인수공통전염병인 것을 고려해 개나 고양이와 같이 사람과 함께 생활하여 직접 접촉의 빈도가 높은 동물에 대해서는 정기검진을 의무적으로 받도록 제도의 개선이 필요할 것으로 여겨진다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 농림축산검역본부 농림축산검역검사기술개발 시험연구예산(N-AD13-2014-18)으로 수행되었습니다.

References

1. **Alton GG, Jones LM, Pietz DE.** Laboratory Techniques in Brucellosis. Issue 55 of Monograph Series. 2nd ed. pp. 70-80. World Health Organization, Geneva, 1975.
2. **Banai M, Corbel M.** Taxonomy of *Brucella*. Open Vet Sci J 2010, **4**, 85-101.
3. **Ewalt DR, Bricker BJ.** Validation of the abbreviated *Brucella* AMOS PCR as a rapid screening method for differentiation of *Brucella abortus* field strain isolates and the vaccine strains, 19 and RB51. J Clin Microbiol 2000, **38**, 3085-3086.
4. **Godfroid J, Saegerman C, Wellemans V, Walravens K, Letesson JJ, Tibor A, Mc Millan A, Spencer S, Sanna M, Bakker D, Pouillot R, Garin-Bastuji B.** How to substantiate eradication of bovine brucellosis when aspecific serological reactions occur in the course of brucellosis testing. Vet Microbiol 2002, **90**, 461-477.
5. **Her M, Cho DH, Kang SI, Lim JS, Kim HJ, Cho YS, Hwang IY, Lee T, Jung SC, Yoo HS.** Outbreak of brucellosis in domestic elk in Korea. Zoonoses Public Health 2010, **57**, 155-161.
6. **Hur J, Kakoman I, Jeong JM, Lee HJ, Baek BK.** Comparison of a new ELISA with other serodiagnostic tests for bovine brucellosis. Korean J Vet Serv 2007, **30**, 385-391.
7. **Jung SC, Her M, Kim JW, Kim JY, Hwang IY, Ku BK, Park YH, Yoo HS.** Bovine brucellosis in Korea. J Zoonoses 2010, **1**, 1-15.
8. **Kim JY, Kang SS, Her M, Lee K, Sung SR, Gu JH, Kang SI, Lee HK, Kim YJ, Kim DG, Jung SC.** Investigation of occurrence factors on brucellosis-outbreak farm in Korea. Korean J Vet Serv 2012, **35**, 263-268.
9. **Kim KH, An SH, Park YH, Kim DS.** Comaprison of six serological methods for the diagnosis of bovine brucellosis. Korean J Vet Res 1982, **22**, 149-153.
10. Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (KR). Control and prevention measures standard operation protocol of brucellosis and tuberculosis. Notice 2009-147 (Aug. 25, 2009).
11. **Nicoletti P.** The epidemiology of bovine brucellosis. Adv Vet Sci Comp Med 1980, **24**, 69-98.
12. **Nielsen K.** Diagnosis of brucellosis by serology. Vet Microbiol 2002, **90**, 447-459.
13. **OIE Biological Standards Commission.** Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). 6th ed. Vol. 2. pp. 624-659. World Organisation for Animal Health, Paris, 2008.
14. **Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR.** Clinical Veterinary Microbiology. pp. 261-267. Wolfe, London. 1994.
15. **Ryu JY, Bun JH, Lee HY, Lee YC, Lee JJ, Song YG, Nam HM.** Isolation of *Brucella* spp from sero-positive native bulls and calves below twelve months old. Korean J Vet Serv 2007, **30**, 375-384.
16. **Truong LQ, Kim JT, Yoon BI, Her M, Jung SC, Hahn TW.** Epidemiological survey for *Brucella* in wildlife and stray dogs, a cat and rodents captured on farms. J Vet Med Sci 2011, **73**, 1597-1601.