

Kajian Serologis (*Lateral Flow Assay*, RBT, CFT) Kejadian Brucellosis di Daerah Endemis Kabupaten Pinrang sebagai Acuan dalam Pengendalian Brucellosis di Sulawesi Selatan

Muflihanah¹, Mohammad Hatta², Siswani¹, Rosmiaty¹ Soegiarto¹, Faizal Zakariya¹, Iryadi¹, Henk L Smits³

¹Balai Besar Veteriner Maros

²Laboratorium Immunologi dan Molekuler Fakultas Kedokteran UNHAS

³KIT Biomedichal Research, Royal Tropical Institute Amsterdam, The Netherlands

Intisari

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan uji serologis *lateral flow* dengan uji serologis lainnya (RBT dan CFT) dalam penentuan prevalensi di daerah endemis berdasarkan kajian epidemiologi. Penelitian ini terdiri atas penelitian eksploratif dan observasional laboratorium dengan desain *cross sectional study*. Secara eksploratif bertujuan untuk mengkaji karakteristik serologis Brucellosis sedangkan secara observasional bertujuan untuk membandingkan uji serologis *lateral flow* dengan uji serologis lainnya dalam penentuan prevalensi Brucellosis di daerah endemis khususnya di Kabupaten Pinrang. Pengambilan spesimen serologis berdasarkan asumsi prevalensi 7%, dengan tingkat kepercayaan 95% dan tingkat error 5%, kemudian dihitung berdasarkan besaran spesimen sistem tahapan ganda dengan jumlah spesimen sebesar 315 (0.73%) pada tingkat kabupaten, dengan asumsi 5 sampai 14 spesimen per kecamatan dan 0 sampai 18 spesimen perdesa.

Dari penelitian diperoleh 393 spesimen dan hasil penelitian menunjukkan rerata pengujian RBT sebesar 18.3 (95% CI, 17-21) dan 19,3% (95% CI, 17-22) pada pengujian CFT. Seropositif gabungan pada pengujian RBT dan CFT adalah 21,9%. Dari penelitian ini didapatkan prevalensi Brucellosis di Kabupaten Pinrang cukup tinggi sebesar 19,3%.

Dari perbandingan antara pengujian *lateral flow* dengan pengujian RBT dan CFT di dapatkan bahwa pengujian *lateral flow* dan RBT memiliki kesesuaian yang cukup tinggi dengan nilai *Kappa* sebesar 0,917 sedangkan *lateral flow* dengan CFT memiliki nilai *Kappa* 0.902. Dari hal tersebut menunjukkan bahwa teknik *lateral flow* dapat digunakan dalam serodiagnosis Brucellosis dilapangan.

Kata Kunci : *Lateral Flow, CFT, RBT, Prevalensi*

Pendahuluan

Brucellosis adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Brucella*. Bakteri ini merupakan bakteri Gram-negatif, fakultatif dan kokobasilus intraseluler (Crasta *et al.*, 2008). Brucellosis dapat menyerang sapi, kerbau, kambing, babi, rusa dan anjing. Juga dilaporkan menyerang unta dan hewan laut seperti lumba-lumba (Angara *et al.*, 2009). Penyakit yang bersifat zoonosis ini menyerang manusia dan lebih dikenal dengan *undulant fever* dan demam Malta. Brucellosis tersebar di negara-negara berkembang dan merupakan masalah yang serius di 84 negara di dunia (Ahmed *et al.*, 2010). *Brucella* juga diidentifikasi sebagai agen dalam kategori B yang dapat digunakan dalam bioterorisme (Crasta *et al.*, 2008).

Brucella dibagi ke dalam enam spesies berdasarkan spesifitas inang yaitu *Brucella abortus* pada sapi, *Brucella canis* (anjing), *Brucella melitensis* (kambing), *Brucella neotomae* (tikus), *Brucella ovis* (domba) dan *Brucella suis* (babi) (Gul and Khan, 2007). Menurut Seleem *et al.*, (2010), selain keenam spesies tersebut, terdapat satu jenis lain yaitu *Brucella microti*. Dari enam spesies dibagi ke dalam 18 biovar berdasarkan karakteristik serologi, karakteristik dari kultur, uji biokimia, morfologi, pewarnaan, fenotip metabolik dan *phage typing* (Bricker *et al.*, 2000). Baru-baru dilaporkan ada dua jenis spesies *Brucella* yang ditemukan pada mamalia laut yaitu *Brucella ceti* dan *Brucella pinnipediae* (He *et al.*, 2010).

Penyakit Brucellosis secara serologis dikenal pertama kali di Indonesia pada tahun 1935 ditemukan pada sapi perah di Grati Kabupaten Pasuruan Jawa Timur dan kuman *Brucella abortus* berhasil diisolasi pada tahun 1938 (Putra, 2005). Penyakit Brucellosis sudah bersifat endemis di Indonesia dan kadang-kadang muncul sebagai epidemi pada banyak peternakan. Kriteria daerah endemis yaitu daerah yang tertular ringan dengan prevalensi sama atau kurang dari 2 % dan daerah tertular berat dengan prevalensi lebih dari 2%. Penyakit Brucellosis terdapat diseluruh Indonesia kecuali Propinsi Bali dan Pulau Lombok. Wilayah yang mempunyai tingkat prevalensi tertinggi adalah Nusa Tenggara Timur dan Sulawesi Selatan (Anonimus, 2001).

Brucellosis pada sapi atau penyakit keluron menular disebabkan oleh *Brucella abortus*. Infeksi pada sapi betina dapat mengakibatkan plasentitis yang diikuti abortus pada masa kebuntingan 5-9 bulan. Jumlah *Brucella abortus* sangat tinggi pada janin, leleran vagina serta plasenta dan hal ini merupakan sumber pencemaran dan penularan yang potensial (Sulaiman, 2001). Higroma terjadi pada persendian kaki, adalah gejala yang umum di beberapa negara tropis. Arthritis dapat berkembang pada beberapa infeksi jangka panjang. Epididimitis, vesiculitis seminalis, orchitis atau abses pada testis kadang-kadang terlihat pada sapi jantan (CFSPH, 2009 ; Gwida *et al.*, 2010).

Brucellosis menyebabkan lebih dari 500.000 orang yang terinfeksi setiap tahun di dunia (Gwida *et al.*, 2010). Insidensi penyakit ini pada manusia sangat tinggi di Saudi Arabia, Kuwait, Iran, Palestina, Syria, Jordania dan Oman. Prevalensi pada manusia sekitar 39,5 % (Nusrat, 2004 ; Khan *et al.*, 2007). Risiko penularan dapat terjadi pada peternak, dokter hewan, pekerja di rumah potong hewan, personil laboratorium dan manusia yang mengkonsumsi produk hewan yang terinfeksi, produk hewan yang tidak dipasteurisasi, atau kontak langsung dengan bahan yang terinfeksi. (Gwida *et al.*, 2010; Akhvlediani *et al.*, 2010). Kejadian brucellosis pada manusia di Indonesia jarang dilaporkan serta kurangnya publikasi tentang brucellosis sebagai penyakit zoonosis akibatnya sebagian besar masyarakat tidak mengetahui jika brucellosis dapat menular ke manusia. (Noor, 2006).

Brucella abortus dengan pengujian serologis dan kultur dilanjutkan dengan subtyping adalah metode yang sering digunakan. Kultur merupakan standar emas dalam diagnosis Brucellosis (Gwida *et al.*, 2010). Tetapi bakteri *Brucella abortus* sangat lambat pertumbuhannya dan hasilnya dapat diperoleh dalam waktu beberapa hari sampai beberapa minggu (Smits *et al.*, 2003).

Pengujian serologis banyak digunakan untuk menilai keberhasilan program pengendalian penyakit Brucellosis di lapangan dan menentukan tingkat prevalensi penyakit. Pengujian serologis dilakukan dengan *Rose Bengal Test* (RBT), *Complement Fixation Test* (CFT), *Serum Agglutination Test* (SAT) dan *Enzym Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) (Austvetplan, 2005; OIE, 2009). Selain uji serologis tersebut di atas pengujian serologis dengan *immunochromatographic lateral flow assay* (LFA) telah dikembangkan untuk mendeteksi antibodi terhadap *Brucella* pada serum atau langsung dari darah manusia (Irmak *et al.*, 2004). Bronsvort *et al.*, (2009) telah mengaplikasikan pengujian tersebut pada populasi *Bos indicus* di Afrika Selatan. LFA merupakan uji ELISA secara sederhana untuk mendeteksi antigen dengan antibodi spesifik pada serum atau darah. Pengujian ini berdasarkan pengikatan antibodi spesifik dengan antigen yang diimobilisasi pada strip. Pengikatan antibodi dapat divisualisasi dengan menggunakan konjugat. Hasilnya menunjukkan bahwa uji LFA menunjukkan sensitifitas 87% dan spesifitas 97%.

Aplikasi pengujian laboratorium dengan menggunakan uji SAT, RBT dilanjutkan CFT merupakan pengujian yang standar dalam penentuan prevalensi pada suatu daerah endemis di Indonesia tetapi dengan pengujian serologis *lateral flow* belum pernah dilaporkan.

Berdasarkan hal tersebut di atas, dalam penelitian ini akan dilakukan kajian serologis dengan membandingkan uji serologis *lateral flow* dengan uji serologis lainnya (RBT dan CFT) dalam penentuan prevalensi di daerah endemis berdasarkan kajian epidemiologi.

Materi dan Metode

Penelitian ini terdiri atas penelitian eksploratif dan observasional laboratorium dengan desain *cross sectional study*. Secara eksploratif bertujuan untuk mengkaji karakteristik serologis Brucellosis sedangkan secara observasional bertujuan untuk membandingkan uji serologis *lateral flow* dengan uji serologis lainnya dalam penentuan prevalensi Brucellosis didaerah endemis.

Kabupaten Pinrang adalah salah satu dari 23 Kabupaten yang ada di Sulawesi Selatan. Kabupaten ini dibagi dalam 12 kecamatan dan 104 desa dengan populasi sapi di tahun 2010 berdasarkan data dari Dinas Peternakan Kabupaten Pinrang sebesar 43.208 ekor. Pengambilan spesimen serologis berdasarkan asumsi prevalensi 7%, dengan tingkat kepercayaan 95% dan tingkat error 5%, kemudian dihitung berdasarkan besaran spesimen sistem tahapan ganda dengan jumlah spesimen sebesar 315 (0.73%) pada tingkat kabupaten, dengan asumsi 5 sampai 14 spesimen per kecamatan dan 0 sampai 18 spesimen perdesa.

Jumlah spesimen untuk penelitian penentuan prevalensi berdasarkan pada rumus besar spesimen perkiraan proporsi suatu populasi (Budiharta, 2002) yaitu :

$$N = \frac{4PQ}{L^2}$$

Keterangan :

N = Besarnya spesimen

P = Proporsi kategori (Prevalensi)

Q = 1- Prevalensi

L = Nilai error

Berdasarkan rumus di atas, nilai proporsi kategori adalah 7 % dengan tingkat kepercayaan 95 %, dengan demikian besar spesimen yang diperlukan adalah :

$$\frac{4 \times 0,07 \times 0,93}{(0,05)^2} = 105 \text{ spesimen}$$

Karena dilakukan dengan teknik tahapan ganda (kabupaten, kecamatan, desa/kelurahan) maka jumlah spesimen yaitu $105 \times 3 = 315$ spesimen (terlampir). Spesimen kemudian diuji di laboratorium dengan teknik *lateral flow*, RBT dan CFT.

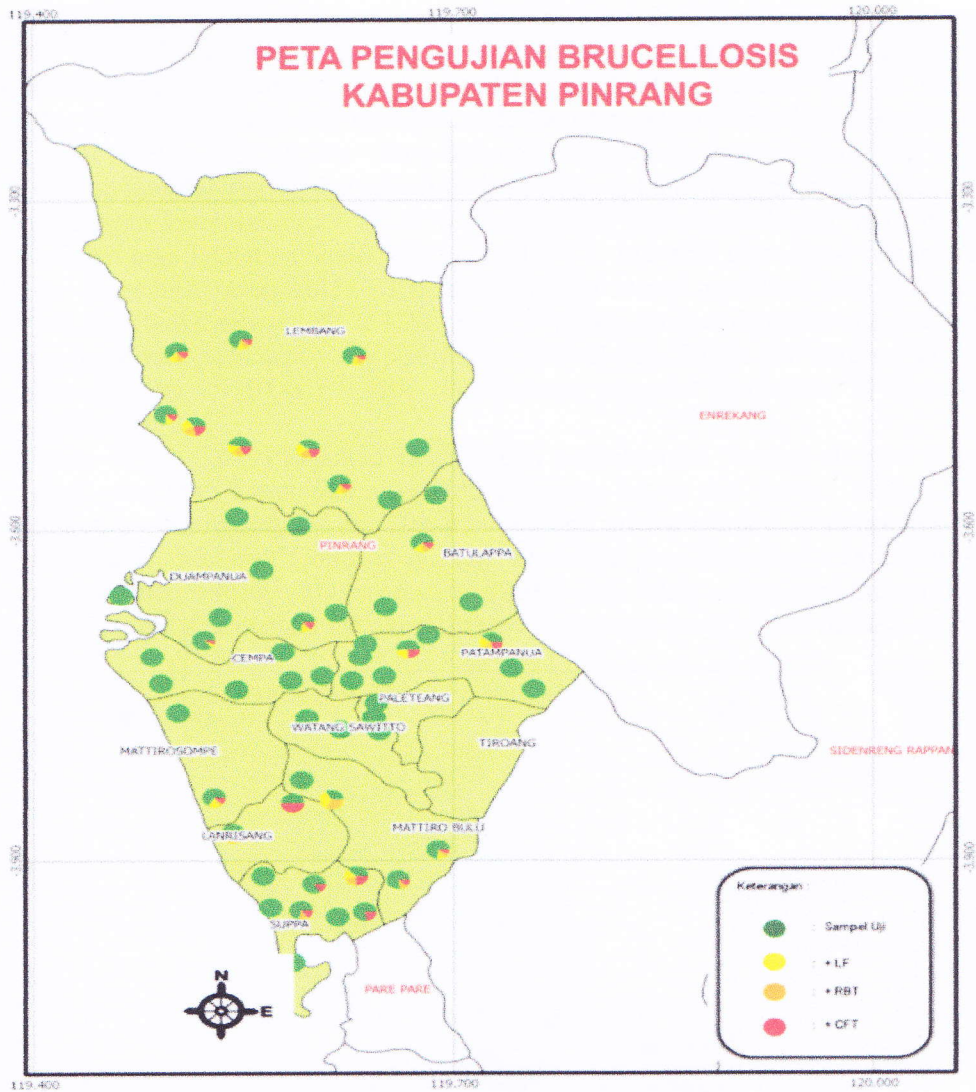
Hasil dan Pembahasan

Pengambilan spesimen untuk studi seroprevalensi di Kabupaten Pinrang diperoleh jumlah spesimen 393 spesimen yang diambil dari 11 kecamatan dan 57 desa kecuali Kecamatan Tiroang. Terdapat 15 desa yang tidak dilakukan pengambilan spesimen karena alasan teknis seperti tidak ada lagi populasi sapi, beberapa peternak yang tidak bersedia untuk dilakukan pengambilan darah pada ternaknya dan lokasi yang sulit untuk dijangkau. Total spesimen ditunjukkan pada Tabel 1 :

Tabel 1. Populasi Sapi di Kecamatan Kabupaten Pinrang dan besaran spesimen yang diambil

Kecamatan	Populasi Sapi(%)	Jumlah Desa	Jumlah Besaran Sampel	Jumlah Sampel yang diambil
Suppa	6146 (14.2%)	10	44.8	45
MattiroBulu	6258 (14.5%)	9	45.6	57
WatangSawitto	196 (0.5%)	8	1.4	3
Paleteang	213 (0.5%)	6	1.6	2
Tiroang	114 (0.2%)	5	0.8	0
Lanrisang	704 (1.6%)	7	5.1	4
MattiroSompe	1722 (4.0%)	9	12.6	14
Duampanua	4292 (9.9%)	14	31.3	35
Cempa	581 (1.4%)	7	4.2	7
Lembang	17365 (40.2%)	14	126.6	182
Patampanua	1970 (4.6%)	10	14.4	15
Batulappa	3647 (8.4%)	5	26.6	29
Total	43208	104	315	393

Dari hasil pengujian serologis diperoleh rerata pengujian RBT sebesar 18,3 % (95% CI, 17-21) dan 19,3% (95% CI, 17-22) pada pengujian CFT. Seropositif gabungan pada pengujian RBT dan CFT adalah 21,9% (Tabel 10). Dari penelitian ini didapatkan prevalensi kasus Brucellosis di Kabupaten Pinrang berdasarkan konfirmasi uji serologis CFT sebesar 19,3%. Pada penelitian ini, kejadian Brucellosis di Kabupaten Pinrang tersebar di delapan kecamatan yaitu Kecamatan Duampanua, Lembang, Batulappa, Patampanua, Mattirobulu, Lanrisang, Mattiro Sompe dan Suppa. Peta sebaran kejadian Brucellosis di Kabupaten Pinrang dapat dilihat pada Gambar 1 berikut ini :



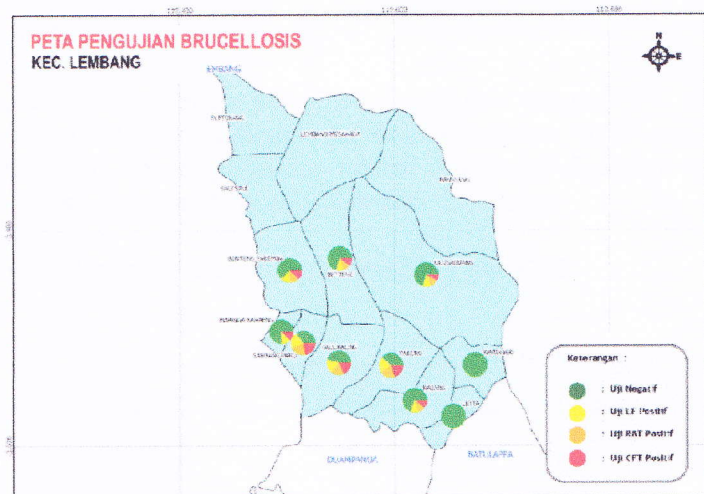
Gambar 1. Peta Sebaran Brucellosis di Kabupaten Pinrang

Tabel 2. Reproduksi, Masalah Reproduksi dan Seropositif Brucellosis pada sapi di setiap Kecamatan Kab.Pinrang

Kecamatan	Jumlah Sampel	Jumlah Kematian Pada anak	Jumlah abortus	Jumlah sapi bunting	Hasil pengujian serologi positif (%)		
					RBPT	CFT	RBPT dan CFT
Suppa	45	-	-	-	4 (8.8%)	10 (22.2%)	10 (22.2%)
MattiroBulu	57	-	-	-	8 (14.3%)	6 (10.5%)	9 (15.8%)
WatangSawitto	3	-	-	-	0	0	0
Paleteang	2	-	-	-	0	0	0
Tiroang	0	-	-	-	Tidak ada pengujian	Tidak ada pengujian	Tidak ada pengujian
Lanrisang	4	-	-	-	1 (25.0%)	2 (50%)	2 (50.0%)
Mattiro Sompe	14	-	-	-	1 (7.1%)	3(21.4%)	3 (8.8%)
Duampanua	35	-	-	-	0	2 (5.7%)	2 (5.7%)
Cempa	7	-	-	-	0	0	0
Lembang	182	42 (7.9%)	61 (11.4%)	94 (51.7%)	56 (30.8%)	55 (30.2%)	57 (31.3%)
Patampanua	14	-	-	-	1 (7.14%)	2 (14.3%)	2 (13.3%)
Batulappa	30	-	-	-	1 (3.4%)	1 (3.4%)	1 (3.4%)
Total	393	-	-	-	72 (18.3%)	76(19.3%)	86 (21.9%)

Dari hasil penelitian ini, prevalensi tertinggi Brucellosis terjadi di Kecamatan Lembang sebesar 30,2% (95% CI, 28 -33) dari 182 spesimen yang diambil. Informasi detail tentang masalah reproduksi di peroleh dari peternak di Kecamatan Lembang dengan jumlah sapi bunting sebesar 51,6%, jumlah sapi yang melahirkan 81,9%, jumlah sapi yang abortus sebesar 25,8%, sapi yang abortus dan anak mati 20,9 %, jumlah sapi yang anak mati setelah lahir 39,0%. Rata-rata umur sapi di Kecamatan Lembang adalah 4-9 tahun (kisaran, 1-13) dimana masalah reproduksi terjadi pada umur 5 - 8 tahun dengan prosentase sapi abortus 30% ($P = 0,02$), sapi dengan kematian anak 23 % ($P < 0,001$) dan jumlah total sapi yang memiliki masalah reproduksi (aborsi dan atau kematian anak) 48,9% ($P < 0,001$). Masalah reproduksi meningkat berdasarkan umur (Tabel 10). Prosentase seropositif CFT tidak meningkat secara signifikan pada kelompok umur yang lebih tinggi ($P = 0,2$). Risiko relatif ($RR = 1,21$, $p = 0,39$) pada abortus dan anak mati rendah, tetapi tidak meningkat secara signifikan pada sapi yang positif CFT (Tabel 11). Tidak ada korelasi antara kebuntingan dengan serologi positif ($RR = 1,10$, $p = 0,650$). Peta sebaran penyakit Brucellosis di Kecamatan Lembang dapat dilihat pada Gambar 2.

Menurut Neta *et al.* (2010) kejadian Brucellosis berhubungan dengan abortus yang terjadi pada trimester ke 3, anak yang lahir lemah dan infertilitas pada sapi betina dan jantan. Infeksi *Brucella* abortus tergantung dari umur, sistem reproduksi dan status imunologi, infeksi alamiah, rute infeksi, dan patogenitas dari setiap strain bakteri. Menurut Gomo *et al.*, (2011) dengan meningkatnya usia hewan maka semakin tinggi kasus seropositif Brucellosis. Abubakar *et al.* (2011) juga telah melaporkan bahwa di India kejadian brucellosis pada sapi meningkat dengan usia, dan insiden yang tinggi pada hewan dewasa secara seksual.



Gambar. 2. Peta pengujian Brucellosis kecamatan Lembang

Dari hasil pengujian menunjukkan bahwa delapan desa dari 10 desa di Kecamatan Lembang positif Brucellosis kecuali Desa Letta dan Desa Kariango. Pada penelitian ini di lakukan kajian terhadap pengujian serologis yaitu membandingkan pengujian *lateral flow* sebagai uji cepat di lapangan dengan pengujian RBT dan CFT. Dari pengujian serologis *lateral flow*, RBT dan CFT menunjukkan bahwa terdapat 16,03% spesimen positif *lateral flow*, RBT dan CFT, 2,03% spesimen positif *lateral flow* dan RBT tetapi negatif CFT, 1,52% positif *lateral flow* dan CFT tetapi negatif RBT, 0,25% positif *lateral flow* tetapi negatif RBT dan CFT, tidak ada spesimen (0%) yang negatif *lateral flow* tetapi positif pada pengujian RBT dan CFT, tidak ada spesimen (0%) yang negatif *lateral flow* dan CFT tetapi positif RBT, dan terdapat 78,37% spesimen yang negatif *lateral flow*, RBT dan CFT.

Tabel 4. Hasil Pengujian Serologis

Lateral Flow	Rose Bengal test	Complement Fixation Test	Total Spesimen
+	+	+	63 (16,03%)
+	+	-	8 (2,03%)
+	-	+	6 (1,52%)
+	-	-	1 (0,25%)
-	+	+	0 (0%)
-	+	-	0 (0%)
-	-	+	7 (1,78%)
-	-	-	308 (78,37%)
Total Spesimen			393

Untuk penentuan sensitifitas dan spesifitas pengujian *lateral flow* harus dievaluasi dengan menggunakan standar emas (*gold standar*), namun pada penelitian ini, evaluasi terhadap pengujian *lateral flow* dilakukan berdasarkan kesesuaian terhadap pengujian baku yang sudah ada yaitu RBT dan uji konfirmasi serologi Brucellosis yaitu CFT. Pada penelitian ini dengan teknik *lateral flow* terdapat 19,3% positif serologis Brucellosis (95% CI, 17-21) Pada penelitian ini derajat kesesuaian menggunakan kesesuaian *Kappa*. Harga *Kappa* terletak 0 - 1, harga 0,5 - 0,6 menyatakan kesesuaian yang sedang-sedang saja. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa antara pengujian *lateral flow* dan RBT memiliki kesesuaian yang cukup tinggi dengan nilai *Kappa* sebesar 0,917. Sedangkan sensitifitas *lateral flow* dibandingkan dengan RBT sebesar 95,8% dan spesifitasnya 97,8%.

Tabel 5. Perbandingan Pengujian Serologis *Lateral Flow* dan RBT

Lateral Flow	RBT		Jumlah
	Positif	Negatif	
Positif	69	7	76
Negatif	3	314	317
Jumlah	72	321	393

Sensitifitas : 95,8 % Spesifitas : 97,8%
Kappa = 0,917

Sedangkan perbandingan antara pengujian *lateral flow* dengan CFT menunjukkan kesesuaian *Kappa* yang cukup tinggi yaitu 0,902. Sedangkan sensitifitasnya sebesar 92,1% dan spesifitas sebesar 98,1%. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa pengujian *lateral flow* dapat dijadikan salah satu uji serologis cepat di lapangan dalam penentuan kejadian Brucellosis di daerah endemis.

Tabel 6. Perbandingan Pengujian Serologis *Lateral Flow* dan CFT

Lateral Flow	CFT		Jumlah
	Positif	Negatif	
Positif	70	6	76
Negatif	6	311	317
Jumlah	76	317	393

Sensitifitas : 92,1% Spesifitas : 98,1%
Kappa = 0,902

Lateral flow merupakan uji ELISA secara sederhana untuk mendeteksi antigen dengan antibodi spesifik pada serum atau darah. Pengujian ini berdasarkan pengikatan antibodi spesifik dengan antigen yang diimobilisasi pada strip. Pengikatan antibodi dapat divisualisasi dengan menggunakan konjugat. Pengujian ini tidak membutuhkan keahlian tersendiri, peralatan dan bahan pengujian yang kompleks, listrik sehingga bisa diaplikasikan langsung di lapangan. Spesimen dapat menggunakan serum atau langsung dari darah hewan (Smits *et al.*, 2003 ; Irmak *et al.*, 2004)

Dari penelitian sebelumnya pengujian ini sangat spesifik dan sensitif dan dapat digunakan sebagai uji lapangan untuk deteksi cepat infeksi Brucella. Sensitivitas pengujian ini 87,5% dan spesifitas 98,1% yang dilakukan di Portugal (Abdoel, *et al.*, 2008) dan Kamerun (Bronsvort *et al.*, 2009). Sedangkan pada manusia pengujian yang dilakukan pada daerah endemik menunjukkan sensitifitas dan spesifitas *lateral flow* 96 % dan .99% (Irmak *et al.*, 2004).

Kesimpulan dan Saran

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa prevalensi penyakit Brucellosis di Kabupaten Pinrang yaitu 19,3% dan teknik *lateral flow* dapat digunakan dalam diagnosa serologis Brucellosis disamping pengujian RBT dan CFT.

Dalam program pengendalian Brucellosis di lapangan sebaiknya menggunakan pendekatan epidemiologi, sehingga data yang didapatkan di lapangan lebih akurat sebagai bahan untuk pembebasan Brucellosis di suatu daerah.

Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini Penulis menyampaikan terima kasih kepada Kepala Dinas Peternakan Kabupaten Pinrang beserta staf, drh. Elvi Martina, Kepala Balai Besar Veteriner Maros beserta staf dan semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Ahmed, M. O., Elmeshri S E, Abuzweda, A.R., Blauo M, Abouzeed, Y M, Ibrahim A, Salem H, Alzwam F, Abid S, Elfahem A, Elrais A.. 2010. *Seroprevalence of brucellosis in animals and human populations in the western mountains region in Libya*, December 2006–January 2008. *Euro Surveill.* 15(30) : pii = 19625 Available online: www.eurosurveillance.org
- Akhvlediani, T., Clark, D. V., Chubabria, G., Zenaishvili, O., Hepburn, M. J.. 2010. *The changing pattern of human brucellosis: clinical manifestations, epidemiology, and treatment outcomes over three decades in Georgia*. *BMC Infectious Diseases* 2010, 10:346
- Angara T. E. E., Ismail, A. A. I, Agab H., Saeed N. S.. *Sero-prevalence of bovine brucellosis in Kuku Dairy Scheme, Khartoum North, Sudan*. 2009. www.sustech.edu/staff_publications
- Anonimus. 2001. *Pedoman Teknis Pembrantasan dan Pengendalian Penyakit Brucellosis di Indonesia*. Jakarta: Direktorat Kesehatan Hewan Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian.
- AusVetPlan. 2005. *Disease Strategy Bovine brucellosis Version 3.0, 2005*. *Animal Health Australia (2005)*. , Primary Industries Ministerial Council, Canberra, ACT. <http://www.animalhealthaustralia.com.au>
- Bricker, B.J., Ewalt, D.R., Alastair,P, MacMillan, Foster, G., Brew, S.. 2000. *Molecular Characterization of Brucella Strains Isolated from Marine Mammals*. *Journal of Clinical Microbiology* Vol. 33, No. 6, p. 1640–1642
- Bronsvort, B.M.D, Koterwas, B, Land, F., Handel, I. A., Tucker, J., Morgan, K. L, Tanya, V. N, Abdoel, T. H., Smits, H. L.. 2004. *Comparison of a Flow Assay for Brucellosis Antibodies with the Reference cELISA Test in West African Bos indicus* *PLoS ONE* 4(4): e5221. doi:10.1371/journal.pone.0005221.
- Budiharta, S.. 2002. *Kapita Selekta Epidemiologi Veteriner*. Yokyakarta: Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada.
- CFSPH. 2009. *Bovine Brucellosis: Brucella abortus*. USA: The Center for Food Security and Public Health. Iowa State University.
- Crasta, O.R., Folkerts, O., Fei, Z., Mane, S.P., Evans, C., Martino-Catt, S., Bricker, B., Yu, G.X., Du, L., Sobral, B.W.. 2008. *Genome Sequence of Brucella abortus Vaccine Strain S19 Compared to Virulent Strains Yields Candidate Virulence Genes*. *PLoS ONE*. www.plosone.org Volume 3 Issue 5.
- Gul, S.T., Khan, A.. 2007. *Epidemiology and Epizootology of Brucellosis : A review*. *Pakistan Vet. J.*, 2007, 27(3): 145-151.

- Gwida, M., Al Dahouk, S. Melzer, F., Rösler, U., Neubauer, H., Tomaso, H.. 2010. *Brucellosis – Regionally Emerging Zoonotic Disease?* Croat Med J. 51: 289-95. www.cmj.hr
- He, Y., Xiang, Z.. 2010. *Bioinformatics analysis of Brucella vaccines and vaccine targets using VIOLIN*. Immunome Research 2010, 6(Suppl 1):S5. <http://www.immunome-research.com/content/6/S1/S5>.
- Immak, H., Buzgan, T., Evirgen, O. M., Akdeniz, H., Demiroz, P., Abdoel, T.H. Smits, H. L.. 2004. *Use the Brucella IgM and IgG Flow Assays in the serodiagnosis of Human Brucellosis in an Area Endemic for Brucellosis*. Am. J. Trop. Med. Hyg., 70(6), 2004, pp. 688–694.
- Nusrat, H. 2004. *Disease Spesific Diagnostic Methods and Lymphokines in Human Brucellosis*. Pakistan: Departement of Microbiology University of Karachi. <http://www.prr.hec.gov>
- Putra, A. A.G. 2005. *Analisis Faktor Resiko Berjangkitnya Brucellosis di Breeding Farm di Jawa Tengah dan Upaya Pemberantasannya*. Denpasar: Buletin Veteriner BPPV Regional Denpasar Vol XVII No 67
- OIE. 2009. *Bovine Brucellosis*. OIE Terrestrial Animal Health. http://www.oie.int/eng/normes/en_mcode.htm
- Seleem, M. N., S. M. Boyle, N. Sriranganathan.. 2010. *Review Brucellosis: A re-emerging zoonosis*. Veterinary Microbiology 140 (2010) 392–398.
- Smits, Henk L., Theresia H. Abdoel, Javier Solera, Encarnacion Clavijo, and Ramon Diaz. 2003. *Immunochromatographic Brucella-Specific Immunoglobulin M and G Lateral Flow Assays for Rapid Serodiagnosis of Human Brucellosis*. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology p. 1141–1146 Vol. 10, No. 6.
- Sulaiman, I. 2001. *Metode Diagnosa Brucellosis Pada Sapi*. Ujung Pandang: Balai Penyidikan Penyakit Hewan wilayah VII.