

크립토스포리디움증의 실험실적 진단법

노재욱 · 강두원 · 장두환 · 강영배*
서울대학교 수의과대학
농촌진흥청 가축위생연구소*
(1991. 7. 23 접수)

Techniques for laboratory diagnosis of cryptosporidiosis

Jae-wuk Noh, Du-weon Kang, Du-hwan Jang, Yung-bai Kang*
College of Veterinary Medicine, Seoul National University
Veterinary Research Institute, Rural Development Administration*
(Received July 23, 1991)

Abstract: Diagnosis of cryptosporidiosis is currently confirmed by the detection of the oocysts or endogenous stages in fecal or tissue samples. Various conventional staining methods and serodiagnostic techniques have been reported, but the latter has far been limited to a few laboratories. *Cryptosporidium* has recently been reported in mice and chickens in Korea, but there has been no report on staining methods to the oocysts.

The present study was performed by light and scanning electron microscopic observations, and discussed with staining properties of four conventional methods such as dichromate solution floatation method, Carbol fuchsin stain, Auramine-O stain and Giemsa stain method. Cryptosporidial oocysts were isolated from the laboratory mouse. In tissue sections of duodenum, jejunum, ileum, cecum and upper colon, numerous very small, basophilic bodies were observed on the border of mucosal epithelial cells. In scanning electron microscopic observations, a few of developmental stages of *Cryptosporidium* were seen.

Two types of thick and thin-walled oocysts were recognized in the intestinal contents. Mean size of its were $5.19 \pm 0.23 \times 4.31 \pm 0.32 \mu\text{m}$ and $5.14 \pm 0.25 \times 4.27 \pm 0.46 \mu\text{m}$, respectively.

Carbol fuchsin and Auramine-O stain methods are recommended as the satisfactory ones for the identification of *Cryptosporidium* oocysts. Giemsa stain was also recommended as available in the laboratory, because a few of developmental stage fo *Cryptosporidium* could be seen by it.

Key words: *Cryptosporidium*, DSF method, carbol fuchsin stain, auramine-O stain, giemsa stain

서 론

Apicomplexa의 *Cryptosporidiidae*과에 속하는 *Cryptosporidium*은 척추동물의 호흡기와 소화기 상피세포의 용모부위에 기생하는 2~6 μm 정도의 작은 기생충으로 Tyzzer에 의하여 마우스에서 최초로 보고된 이래 지금까지 여러 동물에서 약 17종이 보고되어 있으나

그 분류에 대해서는 아직 확실치 않다.¹ 1971년 Panciera et al²이 송아지의 설사와 *Cryptosporidium*의 관련성을 최초로 보고한 이래 현재 가축에서 *Cryptosporidium*의 병원성에 관한 수많은 보고가 이루어져 있다. 그 중 *Cryptosporidium parvum*은 독우와 자양 설사증, *C. baileyi*는 가급에 있어서 호흡기 질환을 일으키는 원인으로 확인되었으며 다른 동물에 있어서의 *Cryptosporidium*

의 병원성은 약한 것으로 알려져 있다.^{1,3,4} 또한 최근
에 *Cryptosporidium*이 사람에게 감염되면 단기간의 설
사를 일으키고 특히 AIDS 등, 면역 기능이 저하되거
나 결핍된 환자에게는 만성적인 설사를 유발시켜 생명
에 위협을 주는 중요 병원체의 하나로 밝혀졌다.^{5,6} 그
러나 아직까지 이 원충에 대한 뚜렷한 치료제가 없으
며 면역초유나 그밖의 약제들에 대한 연구가 진행중에
있을 뿐이다.^{1,7,8}

국내에서는 1981년 장과 조⁹에 의하여 생쥐에서 2.5
%의 감염율이 보고된적이 있으며 1986년 보¹⁰ 등이 담
에서 *Cryptosporidium*의 발생례를 보고한 바 있으나
정확한 분류 동정은 하지 않았다. 최근에 채 등¹¹은 면
역억제를 시킨 마우스에서 *Cryptosporidium*의 오오시
스트가 배설되는 것을 관찰하였다고 보고하였다.¹¹

*Cryptosporidium*의 감염을 진단하기 위하여 초기에
는 생검을 통하여 조직에서 총체를 확인 하였으나 현
재는 분변내의 *Cryptosporidium* 오오시스트의 유무로
확인 하거나¹²⁻¹⁶ 면역학적인 방법으로 진단하고 있
다.¹⁷⁻²¹ 그러나 효소면역측정법이나 단크론성 혹은 복
크론성 항체를 이용한 간접면역형광항체법등의 면역학
적 진단법은 일부 전문화된 실험실에서만 그 사용이
한정되어 있는 실정이다. 국내에서는 *Cryptosporidium*
의 감염진단을 손쉽게 실시하는 연구가 미비하여 총체
확인에 아직도 어려움이 있다.

본 연구는 마우스에서 분리한 *Cryptosporidium*을 대
상으로 현재까지 잘 알려진 몇가지 염색법을 사용하여
오오시스트의 형태와 염색성을 비교 관찰하였으며 장
조직에서 광학 및 전자현미경으로 관찰하여 *Cryptosporidium*
의 진단에 필요한 기초자료를 만들려고 시도
하였다.

재료 및 방법

오오시스트의 분리 : *Cryptosporidium* 무감염된 15g
정도의 BALB/c 마우스 수컷 10마리를 공시하여 개체
당 4.5×10^6 개의 오오시스트를 경구로 접종하고 predn-
isolone 1.0mg을 2일에 한 번씩 3회 피하주사하였다.
접종후 12일째에 부검하여 장 내용물을 채취한 다음
2.5% potassium dichromate($K_2Cr_2O_7$)용액에 섞은 후
두겹의 거즈로 걸러서 4°C에 보관하였다가 염색성 확
인에 사용하였다.

조직의 관찰 : 마우스의 소화기를 11개 부위로 구분
하여서 10% 중성포르말린에 고정한 후 병리 조직 검
사법에 준하여 4 μ m 두께로 절편하고 H & E 염색을 한
후에 관찰하였고, 일부 장 조직은 4×4mm의 크기로
잘라 2.5% glutaraldehyde에 고정한 후 탈수과정을 거

쳐 급으로 코팅한 후 주사전자현미경(Hitachi S-570)
으로 관찰하였다.

오오시스트의 염색성 비교 : DSF(dichromate solu-
tion floatation)법은 Willson과 Acres¹⁴의 방법에 따라
오오시스트를 분리하여 관찰 하였으며 후막(thick wall)
과 박막(thin wall) 오오시스트 각각 20개의 크기를 측
정하였다. Carbol fuchsin 염색은 Garcia et al¹³의 방
법에 준하여 오오시스트 부유액을 슬라이드에 도달하여
carbol fuchsin 용액으로 염색하고 10% sulphuric acid
로 탈색한 후 0.5% malachite green으로 대조 염색하
여 관찰하였다. Auramine-O 형광염색은 Ley et al¹²
의 방법에 따라 오오시스트 부유액을 슬라이드에 얇
게 도달하여 Auramine-O 용액으로 염색한 후 0.5%
aqueous potassium permanganate로 대조염색하여 형
광현미경으로 관찰하였다. Giemsa 염색은 오오시스트
부유액이나 장 점막을 긁어서 슬라이드에 도달하여 실
시하였다.

결 과

1. *Cryptosporidium*의 조직학적 소견

광학 현미경적 소견—마우스의 소화관을 H & E 염
색하여 관찰한 결과 위, 결장하부 및 직장에서는
*Cryptosporidium*이 관찰되지 않았으나 십이지장, 맹장
및 결장상부에서 소수의 원충이 관찰되었고 회장과 공
장에서는 많은 수의 원충이 관찰되었다. 원충은 호염
기성으로 용모 점막상피세포 표면에 흡착 모양으로 부
착되어 있었으며 그 크기는 다양하였다(Fig 1).

주사 전자현미경적 소견—용모 표면에서 merozoite
를 함유하고 있는 type I meront를 비롯한 여러가지 발
육단계의 *Cryptosporidium*이 다수 관찰되었다(Fig 2).

2. *Cryptosporidium* 오오시스트의 염색성 비교

DSF법—마우스의 장 내용물에서 분리한 *Cryptosporidium*
oocyst 오오시스트는 박막과 후막의 2종류가 관찰되
었으며 후막의 오오시스트가 대부분이었다. 그 크기는
진자가 $5.14 \pm 0.25 \times 4.27 \pm 0.46 \mu\text{m}$ 이었으며 그 비는
 1.212 ± 0.123 이었다. 후자는 $5.19 \pm 0.23 \times 4.31 \pm 0.32$
 μm 이었으며 그 비는 1.208 ± 0.083 으로 원형 혹은 타
원형 이었고 오오시스트 속에는 sporozoites와 refractile
body가 있는 것이 관찰되었다(Fig 3).

Carbol fuchsin염색—오오시스트는 약간 짙은 녹색
마광에 빨간색으로 선명하게 염색되었다. 내부는 검은
색의 점과 염색되지 않는 공포가 보이기도 하고 균등
하게 빨간색으로 염색되기도 하였다. 세균들이나 곰팡
이 그리고 다른 잡물들은 malachite green에 대조적으
로 염색되어 짙은 녹색으로 관찰되었다(Fig 4).

Auramine-O 형광염색-형광현미경으로 관찰 하였을 때 오오시스트는 검은 바탕에 밝은 연두색 형광을 띄고 있었으며 그 빛은 변연부에서 강하게 나타나고 중심부위에는 약하게 나타나 도너스의 형태를 연상케 하였다. 오오시스트의 특징적인 크기와 형태는 주위에 형광을 보이는 다른 물질과 잘 구분이 되게 하였다 (Fig 5).

Giemsa 염색-장 내용물을 도말하여 Giemsa로 염색 하였을 때 오오시스트는 염색성이 없거나 희미하여 그 존재 유무를 확인하기가 어려웠다. 그러나 장 점막을 끊어서 도말한 표본에서는 type I과 type II meront를 비롯하여 *Cryptosporidium*의 발육단계로 보이는 것들이 염색되어 보였다 (Fig 6).

고 찰

이 연구는 *Cryptosporidium* 감염의 실험실적 진단을 위하여 오오시스트의 형태와 염색성을 관찰하기 위하여 수행하였다. 마우스에 오오시스트를 감염 시킴과 동시에 변역억제제를 투여하고 12일후에 부검 하였더니 장 내용물에서 많은 오오시스트가 검출되었다. 그 모양은 원형과 타원형이었고 내부에 sporozoites와 refractile body가 보였으나 다른 미세구조는 확실하지 않았다. 오오시스트는 막이 얇은 것과 두꺼운 2종류가 관찰되었는데 후자의 종류가 대다수였으며 그 크기는 $5.19 \pm 0.23 \times 4.31 \pm 0.32 \mu\text{m}$ 으로 그 비는 1.208 ± 0.083 이었다. 전자는 $5.14 \pm 0.25 \times 4.27 \pm 0.46 \mu\text{m}$ 이였으며 그 비는 1.212 ± 0.123 으로 두 종류의 차이는 없었다. *Cryptosporidium parvum*의 오오시스트중 20% 정도는 단일 막으로 둘러 쌓여 막이 얇으며 체외로 배출되지 않고 숙주체내에서 자가 감염되어 생활환을 이루고 나머지 80%의 오오시스트는 *Eimeria*나 *Isospora* spp.의 오오시스트와 유사하게 외부환경에 저항력을 가지는 두꺼운 이중막을 형성하여 체외로 배출되고 이것이 다른 숙주로 전파되는 것으로 알려져 있다.^{1,22} 자가감염되는 막막 오오시스트의 존재는 숙주가 다량의 후막 오오시스트에 반복적으로 노출되지 않고 단지 소수의 오오시스트에 한번 노출되더라도 숙주의 면역상태에 따라 큰 병원성을 발휘할 수 있는 요인이 되고 있다.

마우스의 소화기를 상부로부터 직장까지 11등분하여 H & E 염색하에서 조직을 관찰한 결과 위, 결장하부 및 직장에서는 *Cryptosporidium*이 관찰되지 않았다. 십이지장, 맹장 및 결장상부에서는 비교적 적은 수의 *Cryptosporidium*이 관찰되었고 공장과 회장에서는 다수 기생하고 있음이 관찰되었다. 소장에서 관찰된

*Cryptosporidium*은 호염기성으로 염색되어 점막상피 표면에 점상으로 붙어 있었다. 주사 전자현미경하에서 많은 수의 *Cryptosporidium*이 점막상피에 부착되어 있었으며 6~8개의 merozoites를 포함한 type I meront도 관찰되었다. 이 연구에서 집중한 *Cryptosporidium*은 그 크기와 숙주에서의 기생부위 및 형태등을 종합하여 동정하여 볼 때 *Cryptosporidium parvum*으로 확인되었다.

*Cryptosporidium*속에 속하는 종류들이 여러가지 알려져 있으나 아직 분류가 불확실하며 어떤 포유동물 숙주에서 분리된 *Cryptosporidium* spp.는 strain보다 isolate로 명명되고 있는 현실에서¹ 이번에 사용한 *Cryptosporidium*은 마우스에서 분리된 *Cryptosporidium* sp.로 잠정적으로 불러주는 것이 더 타당하다고 하겠다.

*Cryptosporidium*의 감염에 대한 정확한 진단은 아직도 어려우며 여러가지 방법이 개발되어 비교되고 있다.^{1,12-16} 본 연구에서는 그중에서 가장 널리 쓰이고 있는 DSF법, Carbol fuchsin염색법, Auramine-O 형광염색법 및 Giemsa 염색법을 사용하여 오오시스트의 염색성을 관찰하였다.

DSF법으로 관찰하였을 때 오오시스트가 가지고 있는 특징적인 내부 구조를 보여주는 것도 있었으며 간혹 refractile body 만이 점상으로 보이기도 하였다. 오오시스트의 수가 적을 경우에 그것을 찾기가 용이하지 않았으며 진균이나 잠물성분과의 구별이 곤란하였다. 이 방법은 *Cryptosporidium* 감염여부가 확인 되지 않았거나 소수의 오오시스트가 존재하는 시료를 검사하고자 할 때에는 적합지 않은 방법이었다. Carbol fuchsin 염색을 한 오오시스트는 빨간색으로 선명하게 보이며 일부 계균들이나 잠물도 붉은색으로 나타나기도 하였으나 그 크기와 형태에 있어서 확실한 차이를 볼 수 있었다. 그러나 그밖의 계균들이나 곰팡이를 비롯한 잠물들은 malachite green에 대조 염색되어 짙은 녹색으로 관찰되었다. 이 염색법은 *Cryptosporidium* 감염의 진단을 위하여 분변내 오오시스트의 동정에 가장 널리 쓰이고 있는 방법으로 다양하게 변형되어 사용되고 있다.^{1,13,16} Auramine-O 형광 염색법은 다량의 시료를 검사하고자 시도된 방법으로¹² 형광염색된 오오시스트는 검은 바탕에 밝은 연두색 형광을 띄고 있으며 그 빛은 변연부에서 강하게 나타나고 중심부위에는 약하게 나타나 도너스 형태와 같았다. 오오시스트는 특징적인 크기와 형태를 보이고 있으므로 형광을 띄고 있는 주변물질과의 구분은 용이 하였다. Giemsa 염색을 하였을 때 후막 오오시스트는 염색이 되지 않거나 염

색상이 희미하여 그 존재 유무를 확인 하기가 어려웠고 장 점막을 끊어서 염색하였을 경우에는 type I과 type II meront 및 trophozoite 등과 유사한 여러가지 발육단계가 잘 염색되었다. 염색된 오오시스트는 내부에 짙은색의 점이 보였고 오오시스트의 type에 따라 염색성은 약간의 차이가 있었다.

일반적으로 위상차현미경이나 전자현미경으로 조직내의 *Cryptosporidium* 발육단계를 관찰한 보고는 많지만^{22,23} Giemsa 염색으로 관찰한 보고는 없으며 또한 이 염색법은 분변내 오오시스트의 동정에 적합치 않은 것으로 평가 되어 있다. 본 연구에서 장 점막도말표본을 Giemsa 염색했다니 *Cryptosporidium* 발육단계를 관찰할 수 있었으므로 Giemsa 염색법을 재평가하여 이용하도록 권하는 마이다.

Willson과 Acres¹⁴는 송아지의 분변에 *Cryptosporidium* 오오시스트와 곰팡이인 *Candida*를 섞은 다음 DSF 법과 Giemsa염색법을 비교하여 DSF법은 오오시스트와 곰팡이를 확실히 구분할 수 있으나 Giemsa염색법은 곰팡이가 가끔 오오시스트로 혼동되는 경우가 있어 DSF법이 더 좋다고 하였다. Casmore et al¹⁵은 여러가지 염색법을 비교하여 분변내 오오시스트의 동정은 먼저 Auramino-O 형광염색법으로 검사한 다음 Carbol fuchsin 염색법으로 확인 할 것을 권하고 있으며 형광현미경이 없을 경우 이것 대신에 Giemsa 염색법을 이용할 수 있다고 하였다. Garcia et al¹³은 *Cryptosporidium* 동정시 분변을 10% 포르말린에 보관하였다가 Carbol fuchsin 염색할 것을 권하고 있다. 이번 연구를 통하여 *Cryptosporidium*의 감염을 진단할때 Carbol fuchsin 염색법과 Auramine-O 형광염색법이 적합하다는 것을 확인하였고 Giemsa 염색법은 *Cryptosporidium* 발육단계를 관찰하고자 할 때 이용하기에 적합한 방법으로 여겨진다.

외국에서는 현재 효소면역측정법,^{18,21} 단클론성 혹은 복클론성 항체를 이용한 간접 면역형광항체진단법등의 면역학적 진단법이^{17,19,20} 개발되어 사용되고 있는 실정 이므로 국내에서도 이 방법을 사용할 때가 왔으며 동물에 감염된 *Cryptosporidium* spp.를 분리하여 이에 대한 유사성과 특성을 추구하여 정확한 동정을 내려야 할 것으로 생각한다.

결 론

마우스에서 분리한 *Cryptosporidium*을 대상으로 오오시스트의 기생부위, 형태 및 염색성을 조직학적 소견과 현재까지 잘 알려진 4가지 염색법을 사용하여 비교 관찰하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 마우스의 십이지장, 맹장 및 결장상부에서는 소수의 *Cryptosporidium*이 진출되었고 공장과 회장에서는 다수 관찰되었다. 그리고 소장내의 *Cryptosporidium*은 호염기성으로 점막상피 표면에 점상으로 부착되어 있었다.

2. 주사 전자현미경하에서 type I meront 등의 *Cryptosporidium*이 소장 점막상피에 기생하고 있는 것이 관찰되었다.

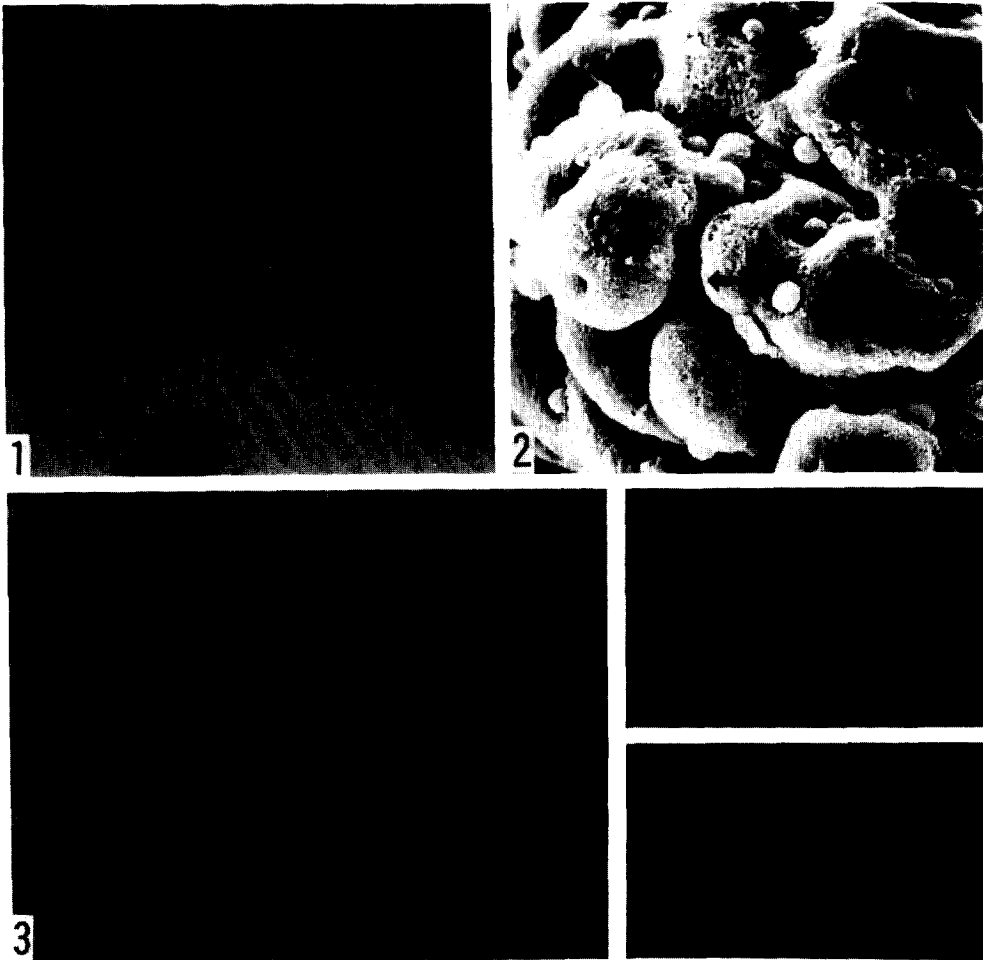
3. *Cryptosporidium*은 박막과 후막 2종류의 오오시스트가 있었으며 후막오오시스트의 크기는 $5.19 \pm 0.23 \times 4.31 \pm 0.32 \mu\text{m}$ 이고 그 비는 1.208 ± 0.083 이었다. 박막 오오시스트의 크기는 $5.14 \pm 0.25 \times 4.27 \pm 0.46 \mu\text{m}$ 이고 그 비는 1.212 ± 0.123 이었으며 박막 오오시스트의 수가 적었다.

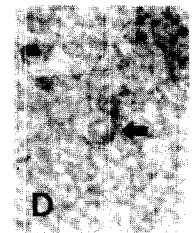
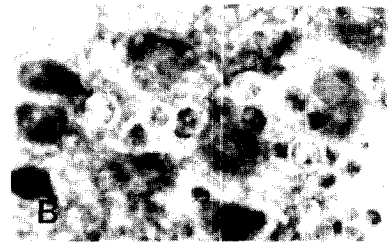
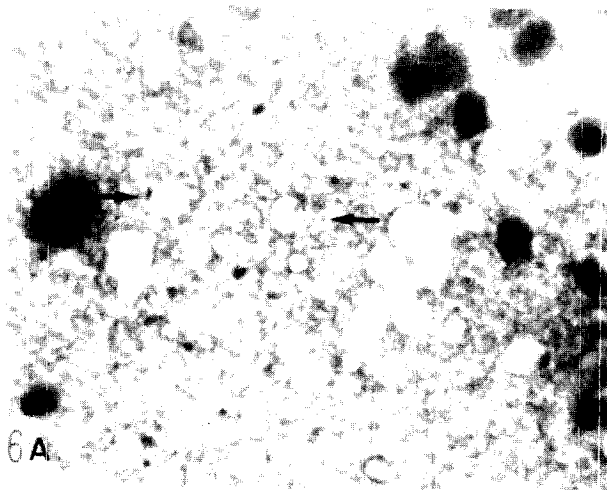
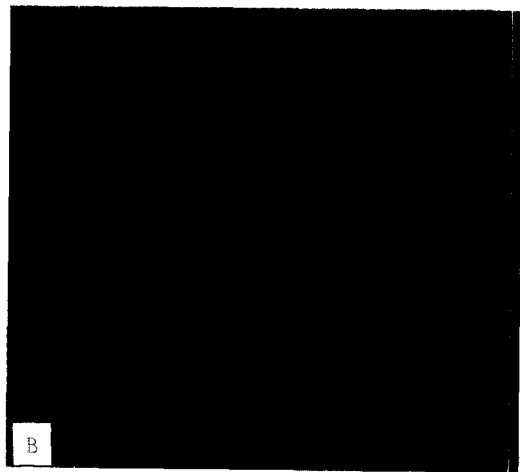
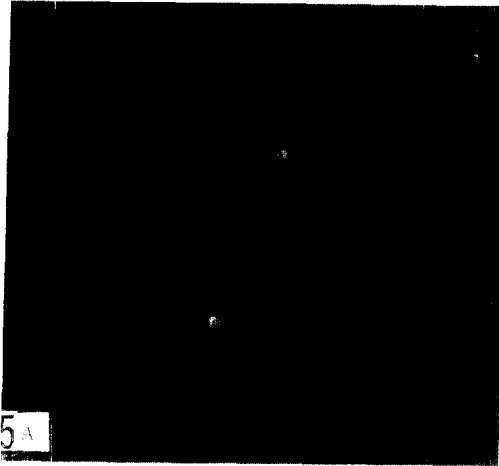
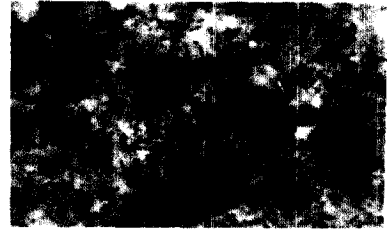
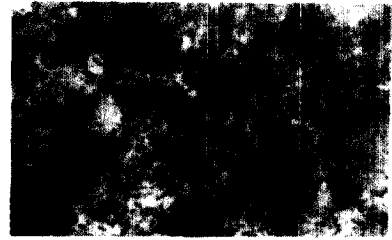
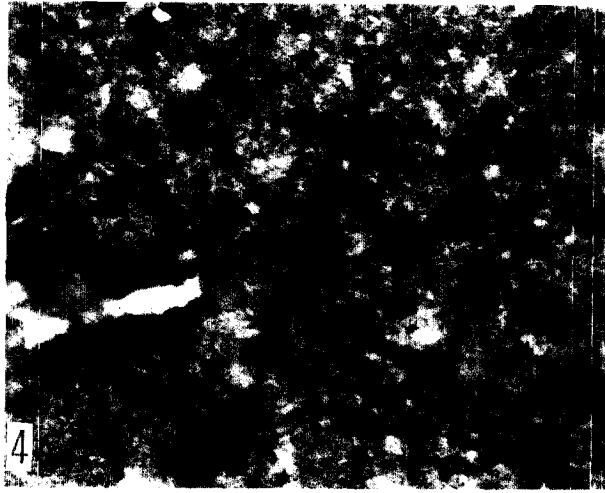
4. Carbol fuchsin 염색법과 Auramine-O 형광염색법에서 오오시스트는 특징적인 형태를 나타내어서 주위 잡물과의 구별이 용이하였다.

5. Giemsa 염색으로 장 점막도말표본을 염색했을때 *Cryptosporidium*의 몇몇 발육단계를 관찰할 수 있었다.

Legends for figures

- Fig 1.** Developmental stages (arrows) of *Cryptosporidium* sp. on the epithelial surface of ileum, H & E. $\times 1000$.
- Fig 2.** Scanning electron micrograph of developmental stages of *Cryptosporidium* sp on the epithelial surface of ileum. Note the type I meront (arrow) with eight merozoites. $\times 2500$.
- Fig 3.** (A) Cryptosporidial oocysts in DSF solution. $\times 400$.
(B) Thick-walled oocyst. $\times 1,000$.
(C) Thin-walled oocyst. $\times 1,000$.
- Fig 4.** (A) Cryptosporidial oocysts stained with Carbol fuchsin. $\times 400$. (B & C) $\times 1,000$.
- Fig 5.** (A) Cryptosporidial oocysts with the dark central area stained with Auramine-O. $\times 400$.
(B) $\times 2,000$.
- Fig 6.** Giemsa stain on the mucosal scrappings. $\times 1,000$.
(A) Thick-walled oocyst stained purple in around the vacuole.
(B) Developmental stages of *Cryptosporidium* sp.
(C) Type I meront with six merozoites.
(D) Type II meront with four merozoites.





참 고 문 헌

- Fayer R, Ungar BLP. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. *Microbiol Rev* 1986;50:458~483.
- Pancieria S, Tomassen RW, Garner FM. Cryptosporidial infection in a calf. *Vet Pathol* 1971; 8:479~484.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Sundermann CA. Host specificity of *Cryptosporidium* sp. isolated from chickens. *J Parasitol* 1986;72:565~568.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Sundermann CA et al. Experimental *Cryptosporidium* infections in chickens: oocyst structure and tissue specificity. *Am J Vet Res* 1986;47:876~879.
- Miesel JL, Perera DR, Meligro C et al. Overwhelming watery diarrhea associated with *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology* 1976;70:1156~1160.
- Nime FA, Burek JD, Page DL et al. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology* 1976;70:592~598.
- Arrowood MJ, Mead JR, Mahrt JL et al. Effects of immune colostrum and orally administered antiparasite monoclonal antibodies on the outcome of *Cryptosporidium parvum* infections in neonatal mice. *Infect Immun* 1989;57:2283~2288.
- Fayer R, Andrews C, Ungar BVL et al. Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves. *J Parasitol* 1989;75:393~397.
- 장두환, 조영웅. 국내실험동물의 건강실태조사. 3. 흰쥐와 생쥐에 감염된 원충류와 외부기생충의 검색. 서울대 수의대 논문집 1981;6:197~203.
- 모인필, 윤희정, 최상호 등. 닭의 cryptosporidiosis 발상례 보고. 대한수의학회지 1986;26(suppl):29.
- 채종일, 신손문, 윤종구 등. 면역억제에 의한 마우스의 *Cryptosporidium*의 발현시험. 기생충학잡지 1990;28(1):31~37.
- Ley DH, Levy MG, Hunter L et al. *Cryptosporidia*-positive rates of avian necropsy accessions determined by examination of auramine O-stained fecal smears. *Avian Dis* 1988;32:108~113.
- Garcia LG, Bruckner DA, Brewer TC et al. Techniques for the recovery and identification of *Cryptosporidium* oocysts from stool specimens. *J Clin Microbiol* 1983;18:185~190.
- Willson PJ, Acres SD. A comparison of dichromate solution floatation and fecal smears for diagnosis of Cryptosporidiosis in calves. *Can Vet J* 1982;23:240~246.
- Casemore DP, Armstrong M, Sands RL. Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. *J Clin Pathol* 1985;38:1337~1341.
- Pohjola S, Jokipii L, Jokipii AMM. Dimethylsulphoxide-Ziehl-Neelsen technique for detection of cryptosporidial oocysts. *Vet Rec* 1985;115: 442~443.
- Snyder DE. Indirect immunofluorescent detection of oocysts of *Cryptosporidium parvum* in the feces of naturally infected raccoons. *J Parasitol* 1988;74:1050~1052.
- Snyder DE, Current WL, Russek-Cohen E et al. Serological incidence of *Cryptosporidium* in Delmarva broiler flocks. *Poult Sci* 1988;67:730~735.
- Arrowood MJ, Sterling CR. Comparison of conventional staining methods and monoclonal antibody-based methods for *Cryptosporidium* oocyst detection. *J Clin Microbiol* 1989;27:1490~1495.
- Mann ED, Sekla LH, Eibisch G. *Cryptosporidium* antibodies in Manitoba cattle: A pilot study using an indirect fluorescent antibody procedure. *Can Vet J* 1987;28:126~128.
- Ungar BL. Enzyme-linked immunoassay for detection of *Cryptosporidium* antigens in fecal specimens. *J Clin Microbiol* 1990;28:2491~2495.
- Current WL, Reese NC. A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in sucking mouse. *J Protozool* 1986;33:98~108.
- Current WL, Upton SJ, Haymes TB. The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* sp.(Apicomplexa, *Cryptosporidiidae*) infecting chickens. *J Protozool* 1986;33:289~296.