

## *Neospora caninum*에 의한 젖소의 반복유산

김재훈\* · 황의경\* · 손현주\* · 진영화\* · 윤순식\* · 김대용

서울대학교 수의과대학  
국립수의과학검역원\*  
(1998년 7월 25일 접수)

### Repeated bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Korea

Jae-hoon Kim\* , Eui-kyung Hwang\* , Hyun-joo Sohn\* , Young-hwa Jean\* ,  
Soon-seek Yoon\* , Dae-yong Kim

College of Veterinary Medicine, Seoul National University  
National Veterinary Research and Quarantine Services\*

(Received Jul 25, 1998)

**Abstract** : A case of repeated bovine abortion caused by *Neospora caninum* is described. The 3-year-old Holstein cow, which was seropositive to *N caninum* antibody by indirect immunofluorescent assay, aborted consecutively within a 10-month period. Two fetuses of 6- or 5-month of gestation were aborted in June 1996 and March 1997, respectively. Histologically, multifocal necrotizing encephalitis, nonsuppurative periportal hepatitis, myocarditis, and myositis were observed in both fetuses. Tachyzoites or tissue cysts detected in the brain, heart and liver were positive to *N caninum* but negative to *Toxoplasma gondii* by immunohistochemical method. The results of our study demonstrate that repeated abortion due to *N caninum* actually occurs in Korea. This is believed to be the first report of repeated abortion associated with *N caninum* in Korea.

**Key words** : holstein cow, repeated abortion, fetus, *Neospora caninum*.

## 서 론

Neosporosis는 가장 최근에 밝혀진 원충성 질병으로서 *Neospora(N) caninum*에 의해 발생한다<sup>1,2</sup>. 1988년 미국의

Dubey *et al*<sup>3</sup>은 후구마비로 폐사한 개에서 다발성 신경염과 근염을 관찰하였으며, 세포배양을 통하여 본 원충을 최초로 분리하여 *N caninum*이라고 명명하였다. *N caninum*은 분류학상으로 Apicomplexa문, Sarcocystidae과에 속하고 *Toxoplasma gondii*에 가장 가까우며 소, 개 및

본 연구는 농촌진흥청 농업특정연구과제에 의해서 수행되었음.

Address reprint requests to Dr. Dae-yong Kim, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744, Republic of Korea.

원숭이를 비롯한 여러 동물에서 자연 및 실험감염을 통하여 유산산과 신경증상을 일으키는 것으로 알려져 있다<sup>1,2</sup>. 현재까지 밝혀진 바에 의하면 neosporosis는 미국, 일본을 포함한 거의 전세계적인 발생분포를 보이고 있으며 특히 미국의 캘리포니아주에서는 젖소의 유산을 일으키는 가장 중요한 원인체로 확인되었다<sup>4-7</sup>.

한국에서는 김 등<sup>9,10</sup>이 6개월령 된 젖소 유산태아에서 *N caninum*에 의한 유산을 최초로 보고한 바 있다<sup>8</sup>. 김 등<sup>9,10</sup>은 또한 경기도 일원에서 의뢰된 약 60여두의 젖소 유산태아를 대상으로 병리조직학적 및 면역조직화학 검사를 실시한 결과 그중 6예에서 네오스포라 감염을 확인하였으며, 예정일보다 15일 늦게 분만한 기형 송아지의 뇌로부터 세포배양을 통하여 본 원충을 국내 최초로 분리한 바 있다<sup>9,10</sup>.

*N caninum*은 소에서 임신 3개월부터 분만 전까지 다양한 임신연령에서 유산을 일으키는데 대개는 임신중기에 가장 흔하게 발생한다<sup>12</sup>. *N caninum*에 감염된 유산태아나 선천적으로 감염된 송아지의 특징적인 병리조직학적 소견으로는 괴사성 혹은 비화농성 뇌척수염, 심근염, 근염 등이 있으며 드물게는 간이나 신장에 염증을 유발하기도 한다<sup>12</sup>. 본 저자들은 지난 수년간 수의과학점역원 병리진단과에 의뢰된 소 유산태아를 검사하던중 1996년과 1997년에 걸쳐 동일한 어미젖소에서 *N caninum* 감염에 의한 반복유산이 입증되었기에 그 증례를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**실험동물** : 경기도 광주군 소재 40두 규모의 젖소 목장에서 1996년 4월부터 1997년 3월까지 7두의 홀스타인 암컷이 8두의 송아지를 유산하였다. 유산한 젖소중 1두는 2산차로 1996년 6월에 6개월령 태아와 1997년 3월에 5개월령 태아를 연속하여 유산하였으며, 이 두 마리의 태아가 모두 국립수의과학점역원 병리진단과에 의뢰되었다. 또한 어미젖소에 대한 혈청도 의뢰되어 검사를 실시하였다.

**병리해부학적 검사** : 송아지 유산태아 2두에 대하여 일반적인 부검술식에 따라 외관검사를 실시한 다음, 개복하여 흉강 및 복강장기를 세밀하게 관찰하였다. 두개골과 척추를 제거하고 경뇌막을 절개한 후 손상이 가지 않도록 뇌 및 척수를 적출하여 관찰하였다.

**병리조직학적 검사** : 주요 실질장기를 10% 중성 완충 포르말린 용액에 충분히 고정된 후 일반적인 조직처리 과정을 거쳐 파라핀에 포매하였다. 포매후 4 $\mu$ m 두께의 조직절편을 준비하여 탈파라핀하고 hematoxylin 및 eosin 염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다.

**면역조직화학염색** : 송아지 유산태아 조직에 대한 면역조직화학염색은 Avidin-biotin peroxidase complex(ABC)법을 다소 변형시켜 실시하였다. 특히 뇌, 심장, 간장 및 근육조직의 절편을 탈파라핀시킨 다음, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 함유 무수 메탄올에 5분간 처리하고, 신선한 0.1% pronase로 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 처리한 후 0.1% gelatin에 희석한 5% normal rabbit serum으로 37 $^{\circ}$ C 습상에서 20분간 반응시켰다. 일차항체는 1:3,000배로 희석한 *N caninum* 고도면역혈청(VMRD, USA)을 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 처리한 다음 차가운 TTBS-HS/Tx로 수세하였다. 2차항체는 biotinylated anti-goat IgG(Vector Lab., USA)를 1:200으로 희석하여 37 $^{\circ}$ C 습상에서 20분간 반응시킨 뒤 avidin-biotin complex 용액에 20분간 적용시키고 3,3'-diaminobenzidzin tetrachloride (DAB)로 발색시켰다. 핵 대조염색으로 Mayer's hematoxylin 염색을 하여 광학현미경으로 검경하였다. 또한 *T gondii* 단클론 항체와 다클론 항체(BioGenex Lab., USA)를 이용한 면역조직화학염색도 병행하여 실시하였다.

**혈청검사** : 어미젖소에 대한 혈청검사는 간접형광항체법(IFA test)을 이용하여 실시하였다. 혈청을 PBS(pH 7.4)로 200배 희석한 다음 *N caninum* tachyzoite가 부착된 12 well plate에 10 $\mu$ l씩 분주하였다. 37 $^{\circ}$ C 습상에서 1시간 반응시키고 0.05% Triton X-100이 함유된 PBS(pH 7.4)로 5분씩 3회 세척하였다. 2차항체는 1:500으로 희석된 FITC conjugated goat anti-bovine 항혈청(Cappel Durham, USA)으로 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 반응시킨 후 형광현미경(Nikon Optiphot, Japan)으로 관찰하였다.

## 결 과

**병리해부 및 조직학적 소견** : 부검시 2두의 유산태아는 외관상 정상이었으나 1두의 경우 피부가 다소 발적되어 있었으며(Fig 1), 모든 실질장기에서 별다른 육안소견을 관찰할 수 없었다.

병리조직학적 소견으로 유산태아 2두에서 모두 괴사성 뇌염 및 소장 간염소견을 관찰할 수 있었다(Table 1). 뇌에서는 대뇌, 소뇌 및 뇌줄기에서 다병소성 괴사성 뇌

**Table 1.** Histopathologic findings and immunohistochemical results of 2 fetuses aborted from a Holstein cow infected with *Neospora caninum*

Fetus No.	Gestational month	Histopathologic lesions							IHC
		Central nervous system			Heart	Liver	Muscle	Kidney	
		Necrosis	Gliosis	PVC					
1	6	+++*	-	+	+	+	NE	-	+
2	5	++	-	-	-	+	++	+	+

PVC : Perivascular cuffing, IHC : Immunohistochemistry,

\* : - : no lesion, + : mild, ++ : moderate, +++ : severe, NE : not examined.

염이 형성되어 신경섬유는 괴사되고 그 주위에는 신경교세포와 단핵구계통의 세포들이 침윤되어 있었다(Fig 2). 간장에서는 주로 문맥삼각주 주위에 다양한 정도로 비화농성 염증세포가 침윤되어 있었다(Fig 3). 또한 6개월령 유산태아에서는 뇌의 일부와 척수에서 국소적인 위관성 원형세포 침윤 및 비화농성 뇌막염 소견도 관찰할 수 있었다. 심장에는 심근 또는 심내막에 림프구, 형질세포, 큰포식세포들로 구성된 비화농성 염증세포가 국소적으로 침윤되어 있었다.

5개월령 유산태아에서는 골격근과 신장에서 소상 비화농성 염증소견도 확인할 수 있었다. 특히 이 개체의 뇌에서는 뇌실 주변부 또는 연뇌막 주위 뇌실질에서 직경 10-15µm에 달하는 조직낭을 다수 관찰할 수 있었으며(Fig 4A), 조직낭 주위에는 별다른 병변을 확인할 수 없었다.

면역조직화학 소견 : 면역조직화학 염색결과 6개월령 유산태아에서는 뇌, 심근 및 간장에서 *N. caninum* tachyzoite 항원을 검출할 수 있었다. 뇌에서는 괴사병변이 있는 부위 또는 괴사주변의 뇌실질에서 집락을 형성하고 있었다. 심근과 간장에서는 비화농성 염증세포의 침윤이 있는 부위에서 tachyzoite가 관찰되거나 침윤된 큰포식세포의 세포질에서 양성반응을 관찰할 수 있었다.

5개월령 유산태아에서는 뇌실 주위의 실질에서 원충의 조직낭에서 강한 양성반응을 나타내었으며(Fig 4B), 기타 장기에서는 양성반응을 관찰할 수 없었다. 그러나 2두 모두 *T. gondii* 항체를 이용한 면역조직화학염색에서는 음성을 나타내었다.

혈청검사 : IFA법으로 어미젖소에 대한 혈청검사 결

과 양성반응을 나타내었다. 양성반응은 plate에 부착된 *N. caninum* tachyzoite의 외곽전체에서 강한 형광을 띠고 있었다.

## 고 찰

본 연구를 통하여 동일한 어미젖소가 유산한 두 마리의 태아에 대하여 부검을 실시하고 병리조직학적 검사와 면역조직화학염색 결과 *N. caninum* 감염에 의한 반복 유산임을 국내 최초로 밝힐 수 있었다. 이 목장의 경우 나머지 6두의 유산태아에 대해서는 병리학적 검사가 수행되지 않았기 때문에 목장내의 *N. caninum*에 의한 유산율은 분석하기 곤란하였다. 그러나 본 목장에서 사육중인 어미젖소를 대상으로 간접형광항체법을 이용한 혈청검사를 실시한 결과 매우 높은 항체양성율을 나타내었다.

젖소에서 *N. caninum*에 의한 반복유산은 비교적 드문 것으로 알려져 있다<sup>11-14</sup>. Anderson *et al*<sup>13</sup>은 미국의 California에 위치한 26개 젖소목장에서 *N. caninum* 감염에 의해서 유산을 일으킨 112마리의 젖소중 단지 다섯마리에서만 반복유산이 확인되어 반복유산율은 약 4% 정도에 지나지 않는다고 하였다. 네델란드에서 Wouda *et al*<sup>12</sup>도 유산한 26마리의 젖소중 단 2에서만 *N. caninum*에 의한 반복유산을 관찰할 수 있었다. 호주에서는 한 마리의 어미젖소가 세 번의 유산을 하였고, 그중 첫 번째와 세 번째 유산태아의 조직에서 *N. caninum*이 검출된 바 있다<sup>11</sup>. 그러나 *N. caninum*에 의해서 유산을 일으킨 젖소중 상당수가 도태되기 때문에 본 원충의 감염에 의한 정

확한 반복유산율은 잘 모르는 실정이다. *N. caninum* 과는 달리 *T. gondii* 의 경우에는 사람이나 면양에서 반복유산을 일으키지는 않는 것으로 알려져 있다. 소에서 *N. caninum*에 의한 반복유산의 기전은 알려져 있지 않다. 임신 중인 어미소가 임신후 *N. caninum*에 재감염되어 반복유산이 발생하는지 혹은 불현성 감염상태에서 면역억제 등과 같은 기타 다른 복합적인 원인에 의해서 재유산이 되는지 여부는 아직까지 확실치 않다. 단지 본 질병에 자연감염된 소가 다시 임신한 동안에도 태반감염을 예방할 정도의 충분한 면역이나 저항성을 획득하지 못하기 때문인 것으로 추정된다.

본 연구를 통하여 우리나라에서도 *N. caninum* 감염에 의한 젖소의 반복유산이 최초로 입증되었다. 현재 *N. caninum*과 관련된 젖소의 유산은 우리나라를 포함하여 거의 전세계적으로 문제가 되고 있음에도 불구하고 아직까지 본 기생충에 대한 생활환, 감염원 및 치료방법 등에 대해서는 정확히 알려진 것이 없는 실정이다. 현재까지는 소와 접촉이 가능한 설치류, 조류 등의 분변 또는 분비물로부터 사료나 음수원이 오염되지 않도록 하는 차단방역과 유산된 태아 및 후산과 같은 분비물에 다

른 소가 접근하지 못하도록 하는 방안이 최선의 예방책으로 알려져 있다. 따라서 본 질병에 대한 전국적인 규모의 감염실태조사와 치료방법의 개발이 시급한 실정이라 하겠다.

## 결론

경기도 광주군 소재 젖소목장에서 사육하던 3세 홀스타인 암컷 1두가 1996년 6월과 1997년 3월에 연속하여 두 번에 걸쳐 유산한 6개월령 및 5개월령 태아 2두를 검사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 병리조직학적 소견으로 다병소성 괴사성 뇌염 및 비화농성 소장 간염소견이 2두에서 모두 관찰되었다.
2. 면역조직화학염색 결과 태아의 뇌, 심근 및 간장에서 *N. caninum*의 tachyzoite 또는 조직낭을 관찰하였다.
3. 어미젖소의 혈청에 대한 간접형광항체검사 결과 *N. caninum*에 대하여 양성반응을 나타내었다.
4. 따라서 이상의 결과를 종합하여 국내에서 최초로 *N. caninum* 감염에 의한 젖소의 반복유산이 입증되었다.

## Legends for figures

Fig 1. A 5-month-old fetus aborted from Holstein cow infected with *N. caninum*.

Fig 2. Cerebrum of a 6-month-old bovine fetus infected with *N. caninum*.

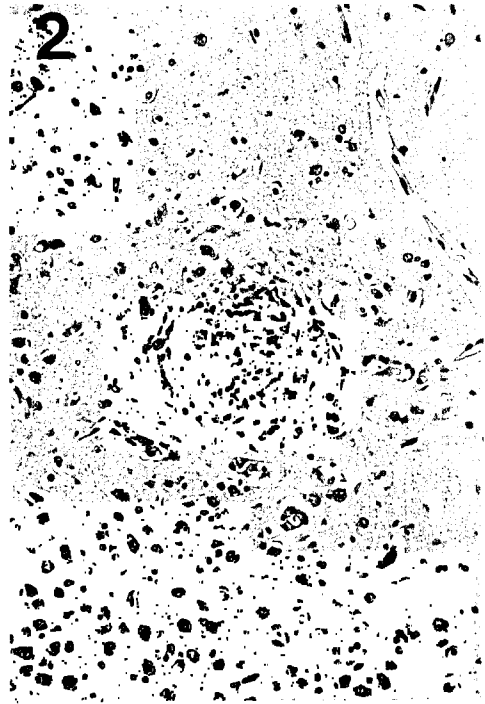
Note a focal necrotizing encephalitis. H&E, X 200.

Fig 3. Liver of a 5-month-old bovine fetus infected with *N. caninum*.

Note mixed mononuclear cell infiltration in the periportal area. H&E, X 200.

Fig 4. Cerebrum of a 5-month-old bovine fetus infected with *N. caninum*.

Note the tissue cyst in the neurophil. A: H&E, X1000, B: ABC, X 1,000.



## 참 고 문 헌

1. Dubey JP, Lindsay DS. Neosporosis. *Parasitology Today*, 9:452-457, 1993.
2. Dubey JP, Lindsay DS. A review of *Neospora caninum* and neosporosis, *Vet Parasitol*, 57:1-58, 1996.
3. Dubey JP, Hattel AL, Lindsay DS, et al. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs : Isolation of the causative agent and experimental transmission. *JAVMA*, 193:1259-1263, 1988.
4. Ogino H, Watanabe E, Watanabe S, et al. Neosporosis in the aborted fetus and newborn calf. *J Comp Path*, 107:231-237, 1992.
5. Agerholm JS, Barr BC. Bovine abortions associated with *Neospora* in Denmark. *Acta Vet Scand*, 35:461-464, 1994.
6. Barr BC, Anderson ML, Blanchard PC, et al. Bovine fetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infections. *Vet Pathol*, 27:354-361, 1990.
7. Anderson ML, Blanchard PC, Barr BC, et al. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *JAVMA*, 198:241-244, 1991.
8. 김대용, 황우석, 김재훈 등. *Neospora* 에 의한 소 유산발생. *대한수의학회지*, 37:607-612, 1997.
9. 김재훈, 김대용, 황의경 등. 국내 *Neospora caninum* 에 의한 소 유산. *대한수의학회 제41차 학술대회*, p 112, 1997.
10. 김재훈, 손현주, 황의경 등. 국내 소에서 *Neospora caninum* 의 분리. *대한수의학회지*, 38:139~145, 1998.
11. Obendorf DL, Murray N, Veldhuis G, et al. Abortion caused by neosporosis in cattle. *Aust Vet J*, 72:117-118, 1995.
12. Wouda W, de Gee ALW, Moen AR, et al. Laboratory experience with bovine *Neospora* abortion in Dutch dairy herds. *Proceedings, Symposium Neospora Abortus Bij Het Rund*, pp 3-9.
13. Anderson ML, Palmer CW, Thurmond MC, et al. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *JAVMA*, 207:1206-1210, 1995.
14. Dannatt L, Guy F, Trees AJ. Abortion due to *Neospora* species in a dairy herd. *Vet Rec*, 137:566-567, 1995.