

간접형광항체법을 이용한 국내 젖소의 *Neospora caninum*에 대한 혈청역학적 연구

허 권 · 김재훈* · 황우석 · 황의경* · 진영화* · 이병천 · 배지선 · 강영배*
山根逸郎** · 김대용

서울대학교 수의과대학 · 국립수의과학검역원*
일본 가축위생시험장**
(1998년 7월 25일 접수)

Seroepidemiological study of *Neospora caninum* in Korean dairy cattle by indirect immunofluorescent antibody assay

Kwon Hur, Jae-hoon Kim*, Woo-suk Hwang, Eui-kyung Hwang*, Young-hwa Jean*,
Byung-chun Lee, Ji-seon Bae, Yung-bai Kang*, Itsuro Yamane**, Dae-yong Kim

College of Veterinary Medicine, Seoul National University
National Veterinary Research and Quarantine Service*
Laboratory of Epidemiology, National Institute of Animal Health**

(Received Jul 25, 1998)

Abstract : This study was carried out to investigate the prevalence of *Neospora (N) caninum* infection in Korean dairy herds. To determine the prevalence of antibodies to *N caninum* in Korean dairy cattle, a total of 1,688 sera including 895 sera taken from 30 herds having recent high abortion rate and 793 sera selected randomly from 168 herds with no history of recent abortion problem, respectively, collected nationwide during a designated period were analyzed by indirect fluorescent antibody (IFA) test. Mean nationwide seropositive rate of the sera tested in herds and individual cattle tested were 53.5% and 35.6%, respectively. However mean seropositive rate of the samples from herds having abortion problem was approximately two and half times higher than those in herds with no recent abortion history. Regional seropositive rates of the samples from the herds with abortion problem were 48.6%, 51.6%, 44.4% and 71.4% at Kyunggi, Kangwon, Kyungbuk and Jeonnam province, respectively. Regional seropositive rates of the samples from the herds with no recent abortion problem were 35.6%, 18.3%, 16.5%, 37.5%, 19.4%, 33.3%, 32.1%, 3.8% and 0.0% at Kyunggi, Kangwon, Chungbuk, Chungnam, Kyungbuk, Kyungnam, Jeonbuk, Jeonnam and Jeju province, respectively. The results of this study sugg-

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.

ested that *N caninum* infection was widespread and considerably associated with bovine abortion in Korea.

Key words : *Neospora caninum*, seroepidemiology, dairy cattle, IFA, abortion.

서 론

*Neospora caninum*은 분류학상 Apicomplexa 문, Coccidia 아강, Sarcocystidae 과에 속하는 원충으로 *Toxoplasma (T) gondii*와 같이 조직낭을 형성하는 특징을 가지고 있으며¹, 개와 찌소 등의 동물에서 유산과 신경근염을 유발한다고 알려져 있다²⁻⁸.

Thilsted와 Dubey⁹는 지속적으로 유사산이 문제되는 미국 뉴멕시코주 찌소 목장의 유산태아 뇌조직에서 *N caninum*과 유사한 원충의 감염을 보고하였다. 그후 유산한 어미 찌소의 혈청검사시 *T gondii*에 대한 항체가 검출되지 않았고, 유산태아의 뇌조직내 원충이 *N caninum* 특이항체에 반응함을 증명하여 *N caninum*이 소 유산의 원인체임을 최초로 입증하였다⁹. 미국 캘리포니아 주에서는 유사산이 발생한 목장에서 의뢰된 태아조직 내에서 관찰된 *T gondii*와 유사한 원충이 면역조직화학 염색시 *N caninum* 특이항체에 반응하여 *N caninum* 감염에 의한 유산임이 밝혀졌다⁴. 특히 이 지역에서는 *N caninum*이 찌소의 유산과 관련된 질병중 약 12%를 차지하는 가장 중요한 원인체로 밝혀졌으며, 연간 3,500만 달러 상당의 막대한 경제적 손실을 초래하였다고 보고되었다^{10,11}. 비육우에서도 이 원충은 유산 또는 신경증상을 야기하기도 한다⁵.

현재 소의 neosporosis는 미국을 비롯하여 남아프리카, 네델란드, 뉴질랜드, 덴마크, 멕시코, 스웨덴, 아일랜드, 영국, 오스트레일리아, 이스라엘, 일본, 짐바브웨, 캐나다 및 한국에서 발생하고 있음이 보고되어 전세계적인 발생분포를 나타내고 있다^{5,12-14}.

소에 있어서 *N caninum*에 의한 유산의 계절적 발생양상을 살펴보면 미국 캘리포니아에서는 여름이나 초가을보다 겨울에 다발하고 네델란드에서는 늦여름이나 초가을에 많이 발생한다고 보고된 바 있다^{10,15,16}. 따라서 나라마다 차이는 있으나 연중 발생하고 있다.

찌소목장의 유산 발현양상은 한 찌소목장에서 지속적으로 수주내에 일부 우군에서 또는 산발적으로 발생한다¹⁷⁻¹⁹. 때로는 유산통과 같은 폭발적인 발생도 보고되었으나 대부분의 진단이 유산 발생목장의 일부 유산태아에 대한 검사에 기초하기 때문에 전체 유산의 원인이 *N caninum*에 의한 것인지는 확실하지 않다²⁰.

국내에서는 김 등¹³이 임신 6개월에 유산된 찌소 태아에서 병리학적으로 *N caninum* 감염을 최초로 보고하였다. 또한 김 등¹⁴은 경기도 여주군 소재 찌소 목장에서 예정일보다 15일 늦게 분만된 기형 송아지로부터 세포 배양을 통하여 본 원충을 분리한 바 있다.

Neosporosis의 혈청학적 진단으로는 간접형광항체법(indirect fluorescent antibody : IFA)²¹와 ELISA(enzyme linked immunosorbent assay)²²가 활용되고 있다. Conrad *et al*²³은 소 유산태아에서 분리한 원충의 tachyzoite를 이용하여 IFA를 실시하여 혈청학적 진단으로 유용하다고 하였다. Par *et al*²⁴은 유산 태아의 복수 또는 흉수에 대해서도 IFA가 진단에 이용될 수 있음을 시사하였다.

본 연구는 국내 찌소의 *N caninum* 감염실태를 파악하기 위하여 간접형광항체법을 이용하여 전국적인 규모의 혈청 역학조사를 수행하였던 바 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

원충 및 세포 : IFA를 위한 *N caninum* 항원 슬라이드는 Yamane *et al*²⁵의 방법에 의하여 제작하였고 원충은 일본 가축위생시험장에서 분양받은 JPA-1주를 사용하였다.

JPA-1주의 tachyzoite는 10% 말혈청(GIBCO BRL, Grand Island, NY)이 첨가된 minimal essential medium(MEM : GIBCO BRL, Grand Island, NY)에서 증식된 Vero cell(GRL 6318, ATCC, Rockville, MD)에서 유지, 계대하였다.

항원 슬라이드 제작 : 항원 슬라이드를 제작하기 위하

여 tachyzoite 접종 7일~10일후에 육안적으로 세포배양 플라스크에 증식된 Vero cell의 약 75%가 감염되었을 때 tachyzoite를 수거하였다. 감염된 세포를 플라스크로부터 수확하여 350g에서 5분간 원심분리하여 상층액은 버리고 약간의 PBS가 남은 상태에서 pellet을 부유시켜 주사 바늘(23G)로 세포를 붕괴시키는 과정을 3회 반복하였다. 50ml 플라스크 시험관(Greiner labortechnik, Austria)에 tachyzoite와 세포붕괴물이 함유된 부유액에 30% percoll 용액(Pharmacia Biotech AB, Sweden)을 첨가하였다. 멸균된 긴 바늘을 이용하여 50%와 80% percoll 용액을 50ml 시험관의 밑부분에 첨가한 후 4℃, 2,200g에서 30분간 원심분리하였다. 50%와 80% percoll 접합면에 위치한 tachyzoite를 수거하여 40ml의 멸균 PBS를 첨가한 뒤 1,700g에서 5분간 원심분리하였다. 상층액을 제거하고 5ml 정도의 PBS가 남은 상태로 tachyzoite를 부유시켜 혈구계산판을 이용하여 수를 측정하고 1μl당 300~400개의 tachyzoite가 포함되도록 희석하였다²⁵.

Teflon-coated 12 well 슬라이드(Superior, USA)의 well당 10μl tachyzoite 함유용액을 떨어뜨린 후 상온에서 건조시키고, 2% paraformaldehyde가 함유된 PBS로 10분간 고정 한 다음 건조시켜 -80℃ 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

검사혈청 : 1996년 9월부터 1998년 2월까지 최근 유사산이 급증하고 있는 30개 젓소목장과 함께 유사산이 문제 되지 않는 일반 젓소목장의 어미젓소에서 무작위로 혈청을 채취하여 검사하였다.

유사산이 급증하고 있는 젓소목장은 최근 유사 발생이 5% 이상을 나타내는 목장들로서 경기도 12개 시·군(광주, 남양주, 여주, 안성, 화성, 이천, 광명, 안산, 의왕, 시흥, 김포, 인천)의 26개 젓소목장과 강원도, 경상북도, 전라남도 각 1개 젓소목장 등 30개 젓소목장에서 895두의 어미젓소 혈청을 검사하였다. 또한 전국적으로 *N. caninum* 감염에 의한 항체양성률을 확인하기 위하여 경기도, 강원도, 충청북도, 충청남도, 경상북도, 경상남도, 전라북도, 전라남도 및 제주도 등 9개 도에서 168개의 일반 젓소목장에서 총 793두의 어미젓소 혈청을 무작위로 수거하여 실험에 사용하였다.

IFA : 국내 젓소의 *N. caninum* 감염여부 확인을 위하여 혈청학적 검사를 실시하였다. 젓소의 혈액을 원심분리하여 혈청을 분리한 다음 PBS(pH 7.4)로 200배 희석하여 tachyzoite가 부착된 12 well 또는 24 well 슬라이드에 각

well당 10μl씩 분주하였다. 37℃ 습상에서 1시간 반응시키고 0.05% triton X-100이 함유된 PBS(pH 7.4)로 5분씩 3회 세척하였다. 슬라이드상의 습기를 완전히 제거한 후 이차항체로는 1:200으로 희석된 FITC conjugated goat anti-bovine antiserum(Cappel Durham, NC, USA)을 각 well당 10μl씩 분주한 다음 37℃ 습상에서 1시간 반응시켰다. 반응이 끝난 슬라이드를 PBS로 5분씩 3회 세척한 후 25% glycerol 함유 PBS로 봉입하여 형광현미경(Nikon Optiphot, Japan)으로 관찰하였다. 양성 및 음성 대조혈청은 일본 가축위생시험장으로부터 분양받은 것을 사용하였다. 양성반응은 슬라이드에 부착된 tachyzoite의 표면 전체에서 형광을 발하는 것을 기준으로 판단하였다.

결 과

항체양성률 : 국내 젓소의 *N. caninum* 감염실태를 파악하기 위하여 전국 198개 젓소목장에서 1,688두의 어미젓소 혈청을 대상으로 검사를 실시하였다. 검사혈청에 대한 젓소목장별, 개체별 IFA 양성률은 Table 1과 같으며, 젓소목장별 양성률은 53.5%, 개체별 양성률은 35.6%에 달하였다.

Table 1. Results of serosurvey of antibodies to *N. caninum* by IFA test

No. of farms	No. of farms positive(%)	No. of cattle tested	No. of cattle positive(%)
198	106(53.5%)	1,688	601(35.6%)

혈청검사시 항원이 부착된 슬라이드상의 tachyzoite 표면 전체에서 형광이 발하는 것만을 양성으로 판단하였다(Fig 1).

유사산 급증 젓소목장의 지역별 항체양성률 : 최근 몇 년간 목장내 유사산 발생이 5% 이상을 나타내고 있는 젓소목장중 경기도의 12개 시·군과 강원도, 경상북도 및 전라남도의 각각 1개군의 30개 젓소목장에서 수집한 895두의 어미젓소 혈청에 대한 IFA 검사결과 양성두수가 437두로 평균 48.7%의 높은 양성률을 나타내었다(Table 2).

각 시·군에 따라 젓소목장수와 검사두수에 차이는 있으나 26.7~93.8%까지 다양하였으며 평균적으로 48.7%

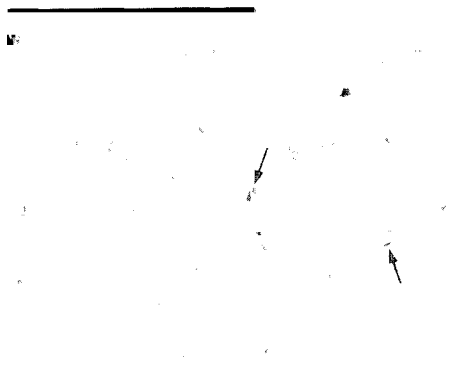


Fig 1. Positive immunofluorescence(white arrow) against *Neospora caninum* by indirect fluorescent antibody test.

에 달하는 높은 항체양성률을 나타내었다. 특히 경기도의 남양주군, 화성군 및 전라남도 영암군은 60% 이상으

로 매우 높은 항체양성률을 나타내고 있었다. 경기도 지역은 평균 48.0%로 전국 평균과 대동소이하였고 지역에 따른 각각의 젖소목장별로는 15.4%에서 93.8%까지 다양한 항체 양성률을 나타내고 있었다.

일반 젖소목장의 지역별 항체양성률 : 최근에 유사산이 크게 문제시 되지 않고 유사산율이 2% 이내인 전국 9개 도의 168개 젖소목장에서 무작위로 채취한 어미젖소 혈청재료 793두에 대한 IFA 항체양성률은 평균 20.7%에 달하였다(Table 3).

전국적으로 지역에 따라 0.0%~37.5%까지 다양한 항체양성률을 나타내고 있다. 경기도, 충청남도, 경상남도, 전라북도는 30% 이상의 높은 항체양성률을 나타내고 있었으며 강원도, 충청북도, 경상북도는 10% 내외의 항체양성률을 나타내었다. 특히 전라남도는 3.8%의 항체양성률을 나타내어 매우 낮았으며, 제주도는 검사한 4개 젖소목장의 177두에서 양성검출되지 않았다.

Table 2. Regional distribution of seropositive ratio to *N. caninum* in dairy cattle from herds with recent abortion

Province	County	No. of farms	No. of cattle tested	No. of cattle positive(%)
Kyunggi	Kwangju	4	76	42(55.3)
	Namyangju	1	16	15(93.8)
	Yeoju	3	158	92(58.2)
	Ansung	2	127	69(54.3)
	Hwasung	1	40	27(67.5)
	Ichun	6	235	86(36.6)
	Kwangmyung	1	8	4(50.0)
	Ansan	4	53	18(34.0)
	Euywang	1	15	4(26.7)
	Seehung	1	26	7(26.9)
	Kimpo	2	47	25(53.2)
	Incheon	1	26	8(30.8)
Kangwon	Chulwon	1	31	16(51.6)
Kyungbuk	Kimchun	1	9	4(44.4)
Jeonnam	Youngam	1	28	20(71.4)
Total		30	895	437(48.7)

Table 3. Regional distribution of seropositive ratio to *N. caninum* in dairy cattle from herds with no recent abortion

Province	No. of farms	No. of cattle tested	No. of cattle positive(%)
Kyunggi	37	146	52(35.6)
Kangwon	6	60	11(18.3)
Chungbuk	25	79	13(16.5)
Chungnam	13	64	24(37.5)
Kyungbuk	23	62	12(19.4)
Kyungnam	12	69	23(33.3)
Jeonbuk	14	84	27(32.1)
Jeonnam	22	52	2(3.8)
Jeju	4	177	0(0.0)
Total	168	793	164(20.7)

고찰

Neosporosis의 진단을 위해서는 유사산이 발생한 젖소 목장의 어미소에 대한 혈청검사와 유산된 태아조직에 대한 병리조직학적 검사 및 면역조직화학 염색에 의한 원충 항원의 검색이 중요한 지표가 되고 있다⁵.

혈청학적인 진단법으로 IFA와 ELISA를 이용하여 어미젖소 혈청에서 *N. caninum* 특이항체를 검출하는 것은 소의 유산을 진단하고, 본 질병의 혈청역학을 조사하는데 유용한 방법이다^{23,24}. 이때 혈청의 희석배율은 중요한 의미를 가지며, 최소희석배율이 학자들에 따라 다소의 견차가 있으나 태아 혈청의 경우 1:80에서 어미젖소의 경우 1:200에서 특이성이 높은 것으로 알려져 있다³⁰. 따라서 본 연구에서는 어미젖소의 혈청을 1:200으로 희석하여 사용하였고, 결과의 판독에 있어서도 Conrad *et al*²³과 Par *et al*²⁴의 주장에 근거하여 slide glass에 coating된 원충 tachyzoite 표면 전체에서 형광이 발하는 것만을 양성으로 판정하였다. 그러나 표면의 일부 또는 첨단부에서만 형광이 확인된 경우에는 비특이로 간주하여 음성으로 판정하였다.

Par *et al*³¹은 소의 혈청내 항체를 검출하기 위하여 *N.*

caninum tachyzoite lysate 항원을 이용한 ELISA를 개발하였으며 항원으로 이용한 개 유래원충주 또는 소 유래원충주에 상관없이 같은 시험결과를 얻었다고 하였다. 그러나 Dubey *et al*²¹은 *N. caninum* tachyzoite lysate를 항원으로 사용한 ELISA는 *Sarcocystis* sp를 인공접종한 소의 혈청과 교차반응이 일어나기 때문에 ELISA 보다는 IFA가 neosporosis의 진단에 더욱 유용함을 확인한 바 있다. 이러한 ELISA의 단점을 극복하기 위하여 Baszler *et al*³²은 *N. caninum* tachyzoite의 carbohydrate epitope에는 반응하지만 *T. gondii* 또는 *Sarcocystis* sp와는 반응하지 않는 단클론항체(Mab 4A4-2)를 생산하였으며, 이 단클론항체를 이용한 competitive inhibition ELISA를 개발하였다.

국내 젖소에서 *N. caninum*의 감염상황을 파악하기 위해 전국 9개 도에서 총 1,688두의 어미젖소 혈청을 대상으로 혈청역학조사를 실시한 결과 젖소목장별 항체양성률은 53.5%, 개체별 항체양성률은 35.6%를 나타내었다. 또한 검사혈청을 최근 몇년간 유사산이 급증하고 있는 젖소목장과 문제시 되지 않는 젖소목장으로 구분하여 항체양성률을 비교하였던 바 48.7%와 20.7%로 나타나 유사산 발생 젖소목장이 2.5배 이상 높은 항체 양성률을 나타내었다.

Anderson *et al*²⁶은 미국의 캘리포니아주에 위치한 8개 지역의 311개 젖소목장을 대상으로 *N. caninum* 혈청검사를 하였던 바 33%에 해당하는 103개 목장이 항체 양성으로 나타났으며, 목장별로 이 원충감염에 의한 유산 발생빈도는 약 20~40%에 달한다고 하였다. Reichel과 Drake²⁷는 뉴질랜드에서 유사산이 발생하고 있는 젖소목장으로부터 655두의 혈청을 채취하여 IFA와 ELISA를 이용한 혈청검사 결과 40%의 양성률을 나타내었다고 하였다. 영국의 McNamee *et al*²⁸은 유산한 어미젖소 324두와 정상적인 어미젖소 165두에 대하여 IFA법으로 *N. caninum* 항체검사를 하였을 때 유산한 젖소는 12.6%, 정상적인 젖소는 3.0%의 항체양성률을 보고하였다. 그러므로 국내에서의 젖소목장별 및 개체별 *N. caninum* 항체양성률은 본 질병이 만연되어 있는 미국이나 뉴질랜드와 대체로 유사하기 때문에 *N. caninum*이 젖소의 유사산을 일으키는 중요한 원인체임을 강력히 시사하고 있다고 하겠다.

유사산 발생빈도가 높은 경기도 12개 시·군과 강원도, 경상북도 및 전라남도 각 1개 군의 지역별 항체양성률은 26.7~93.8%까지 다양한 양상을 나타내었다. 특히

경기도 지역에 위치한 젖소목장은 유산비율이 6.3%~17.5%에 이르고 있으며, 재발유산의 빈도도 5~35%에 달하였는데 일반적인 젖소목장의 유산 발생율이 2% 이내인 점을 감안하여 볼 때 높은 지역들이 대부분이었다²⁹. 지역에 따라 검사대상 젖소목장이 제한적인 면이 있기 때문에 항체양성률이 그 지역전체를 대표할 수는 없고 조사대상 젖소목장내에서 발생하였던 유산의 원인이 본 질병에 국한된다고 판단하기는 어렵지만 유산 급증목장의 경우 평균 48.7%는 주목할 만한 결과로 판단된다. 특히 일부 경기도 남양주군과 화성군 및 전라남도 영암군 소재 젖소목장은 항체양성률이 60% 이상으로 기타 다른 지역 젖소목장에 비하여 월등히 높아서 앞으로 유산 또는 허약한 송아지의 생산 등 번식장애가 지속적으로 문제가 될 수 있기 때문에 주의가 필요하며, 지속적인 검사가 필요하리라 생각된다. 그러나 경기도의왕시, 시흥시 및 인천광역시 등의 경우 30% 이하의 낮은 항체양성률을 나타내었다. 따라서 neosporosis 이외에 유산에 관계되는 부루셀라병, 아까바네병 등 기타 다른 유산 질병에 대한 정밀검사도 함께 이루어져야 할 것으로 판단되었다.

최근 유산 빈도가 높지 않았던 전국 9개 도 젖소목장을 무작위로 선발하여 검사한 결과 평균 20.7%의 항체양성률을 나타내어 실제 유산이 발생하지 않고 있다 하더라도 본 질병이 전국적으로 만연되어 있음을 알 수 있었다. 또한 경기도, 충청남도, 경상남도 및 전라북도 30% 이상의 항체양성률을 나타내었고 전라남도 와 제주도는 3.8%와 0.0%로 낮은 양성률을 나타내어 지역적인 편차가 매우 큰 것을 알 수 있었다. 국내에서 젖소 사육이 가장 밀집되어 있는 경기도 지역의 경우 유산 급증 젖소목장에서는 48.0%, 일반 젖소목장에서도 35.6%의 높은 항체양성률을 나타내어 유산의 문제점이 내재되어 있다 하겠다.

반면에 제주도 지역의 경우 검사한 4개 젖소목장의 177두에서 항체 음성으로 나타나 아직까지는 *N. caninum* 이 전파되지 않은 청정지역일 가능성이 높기 때문에 외부로부터 본 질병이 유입되지 않도록 하는 대책이 필요하다.

금번 연구결과 젖소의 유산과 관련하여 외국의 경우와 마찬가지로 국내 젖소에서 *N. caninum* 이 만연되어 있음이 밝혀졌다. 따라서 앞으로는 국내 분리주를 이용한 단클론항체의 제작 등을 통한 혈청역학적 진단법

의 개량과 진단 kit의 개발이 이루어져야 할 것으로 사료된다.

결 론

국내에서 젖소의 *N. caninum* 감염실태를 파악하기 위하여 1996년 9월부터 1998년 2월까지 전국 9개도에서 최근 유산이 급증하고 있는 30개 젖소목장과 문제되지 않는 168개 일반 젖소목장에서 각각 895두 및 793두 등 총 1,688두의 어미젖소 혈청에 대하여 IFA로 혈청역학 조사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 전국 198개 젖소목장의 1688두 검사혈청에 대한 목장별 및 개체별 항체양성률은 각각 53.5%와 35.6%였다.
2. 유산 발생빈도별로는 최근 유산 급증 젖소목장과 일반 젖소목장은 각각 48.7%와 20.7%였다.
3. 유산 급증 젖소목장이 위치한 지역별 항체양성률은 경기도, 강원도, 경상북도 및 전라남도가 각각 48.0, 51.6, 44.4 및 71.4%였다.
4. 일반 젖소목장의 지역별 항체양성률은 경기도, 강원도, 충청북도, 충청남도, 경상북도, 경상남도, 전라북도 및 전라남도가 각각 35.6, 18.3, 16.5, 37.5, 19.4, 33.3, 32.1, 3.8%였으며, 제주도에서는 양성이 검출되지 않았다.
5. 이상의 결과를 종합할 때 현재 국내에서 neosporosis는 전국적으로 만연되어 있으며, 유산 발생의 주요한 원인이 될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Ellis J, Luton K, Baverstock PR, et al. The phylogeny of *Neospora caninum*. *Mol Biochem Parasitol*, 64: 303-311, 1994.
2. 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.
3. Barber JS, Trees AJ. Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. *Vet Rec*, 139:439-443, 1996.
4. Barr BC, Anderson ML, Blanchard PC, et al. Bovine fetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infections. *Vet Pathol*, 27:354-361, 1990.

5. Dubey JP, Lindsay DS. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol*, 57:1-58, 1996.
6. Lindsay DS, Dubey JP, Cole RA, et al. *Neospora*-induced protozoal abortions in cattle. *Compendium*, 15(6):882-889, 1993.
7. Nietfeld JC, Dubey JP, Anderson ML, et al. *Neospora*-like protozoan infection as a cause of abortion in dairy cattle. *J Vet Diag Invest*, 4:223-226, 1992.
8. Thilsted JP, Dubey JP. *Neospora*-like abortion in a herd of dairy cattle. *J Vet Diagn Invest*, 1:205-209, 1989.
9. Lindsay DS, Dubey JP. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. *Am J Vet Res*, 50:1981-1983, 1989.
10. 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.
11. Jamaluddin AA, Case JT, Hird DW, et al. Dairy cattle abortion in California: evaluation of diagnostic laboratory data. *J Vet Diagn Invest*, 8:210-218, 1996.
12. Ogino H, Watanabe E, Watanabe S, et al. Neosporosis in the aborted fetus and newborn calf. *J Comp Path*, 107:231-237, 1992.
13. 김대용, 황우석, 김재훈 등. *Neospora*에 의한 소 유산 발생. *대한수의학회지*, 37:607-612, 1997.
14. 김재훈, 손현주, 황의경 등. 국내 소에서 *Neospora caninum*의 분리. *대한수의학회지*, 38:139-145, 1998.
15. Moen AR, Wouda W. Field experiences with bovine *Neospora* abortion in Dutch dairy herds. *Proceedings, Symposium Neospora Abortus Bij Het Rund*. 8 November 1995, Morra 2, Drachten, pp. 11-17, 1995.
16. Thurmond MC, Anderson ML, Blanchard PC. Secular and seasonal trends of *Neospora* abortion in California dairy cows. *J Parasitol*, 81:364-367, 1995.
17. McAllister MM, Huffman EM, Hietala SK, et al. Evidence suggesting point source exposure in an outbreak of bovine abortion due to neosporosis. *J Vet Diagn Invest*, 8:355-357, 1996.
18. Moen AR, Wouda W, van Werven T. Clinical and seroepidemiologic follow-up study in four dairy herds with an outbreak of *Neospora* abortion. *Proc. Dutch Society for Veterinary Epidemiology and Economics*. Lelystad, 13 December 1995, pp. 93-103, 1995.
19. Thornton RN, Gajadhar A, Evans J. *Neospora* abortion epidemic in a dairy herd. *N Z Vet J*, 42:190-191, 1994.
20. Yaeger MJ, Shawd-Wessels S, Leslie-Steen P. *Neospora* abortion storm in a midwestern dairy. *J Vet Diagn Invest*, 6:506-508, 1994.
21. Dubey JP, Lindsay DS, Adams DS, et al. Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. *Am J Vet Res*, 57:329-336, 1996.
22. Lally NC, Jenkins MC, Dubey JP. Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in an ELISA for the diagnosis of bovine neosporosis. *Clin Diagn Lab Immunol*, 3:275-279, 1996.
23. Conrad PA, Sverlow KW, Anderson ML, et al. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. *J Vet Diagn Invest*, 5:572-578, 1993b.
24. Par J, Hietala SK, Thurmond MC. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp infection in cattle. *J Vet Diagn Invest*, 7: 273-275, 1995a.
25. Yamane I, Kokuho T, Shimura K, et al. *In vitro* isolation and characterisation of a bovine *Neospora* species in Japan. *Res Vet Sci*, 63:77-80, 1997.
26. Anderson ML, Picanso J, Thurmond M, et al. Epidemiological investigations of bovine protozoal abortion in California dairy herds. *Pro. XVII World Buiatrics Congr. and XXV Am Assoc Bovine Pract Conf Vol*, 2: 74-78, 1992.
27. Reichel MP, Drake JM. The diagnosis of *Neospora* abortions in cattle. *N Z Vet J*, 44:151-154, 1996.
28. McNamee PT, Trees AJ, Guy F, et al. Diagnosis and prevalence of neosporosis in cattle in Northern Ireland. *Vet Rec*, 138:419-420, 1996.
29. 조충호. *수의산과학*, 1판, 영재교육원, 377-395, 1981.
30. Barr BC, Anderson ML, Sverlow KW, et al. Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test. *Vet Rec*, 137:611-613,

1995.

31. Par J, Hietala SK, Thurmond MC. An enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *J Vet Diagn Invest*, 7:352-359, 1995b.
32. Baszler TV, Knowles DP, Dubey JP, *et al.* Serological diagnosis of bovine neosporosis by *Neospora caninum* monoclonal antibody-based competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol*, 34:14230-1428, 1996.