

# 강원도 사육 젖소의 네오스포라포자충(*Neospora caninum*)에 대한 항체양성률 조사

황 의 경\*

상지대학교 생명자원과학대학 동물자원학과  
(계재승인: 2010년 3월 2일)

## Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dairy cattle raised in Kangwon province

Eui-Kyung Hwang\*

Department of Animal Science, College of Life Science and Natural Resources, Sangji University, Wonju 220-702, Korea  
(Accepted: March 2, 2010)

**Abstract :** This survey was carried out to investigate the seroprevalence of antibodies to *Neospora* (*N. caninum*) in dairy cattle raised in Kangwon province in Korea. A total of 349 sera collected from dairy cattle were tested for *N. caninum* antibodies using an indirect immunofluorescent antibody test (IFAT). Ninety six (27.5%) dairy cattle were positive by IFAT. Seroprevalence of cows was 28.9% (91/315) and seroprevalence of boars was 14.7% (5/34). The seroprevalences of cows were increased according to the ages from 19.6% in cows less than 2 year-old to 50.0% in cows more than 7 year-old. Among the seroprevalences of cattle according to the raised areas, five counties or cities, Wheongsung was 34.6% (27/78), Wonju was 29.3% (46/157), Hongcheon was 28.9% (13/45), Chuncheon was 15.0% (3/20) and Cheolwon was 13.3% (2/15). It was proved that dairy cattle raised in Kangwon provinces exposed extensively and seriously to *N. caninum*.

**Keywords :** dairy cattle, IFAT, *Neospora caninum*, seroprevalence

## 서 론

네오스포라포자충(*Neospora caninum*)은 분류학상 Apicomplexa문, Coccidiasina아강, Eucoccidiorida목, Sarcocystidae과 *Neospora*속에 속하는 편성 세포내 기생 원충(protozoa)으로서, 개에서는 주로 신경증상인 후지마비를 유발하고 소에서는 주로 유산을 일으키는 것으로 알려져 있다 [7, 9, 14, 18, 22]. 네오스포라포자충과 *Toxoplasma(T. gondii)*는 형태학적으로 매우 유사하여 항원학적으로나 분자생물학적으로 서로 확연히 다르다는 것이 밝혀지기 전에는 이 원충에 의한 감염예가 대부분 토크소플라스마병으로 잘못 진단되어 왔으나, 1988년 Dubey 등 [16]이 미국의 개에서 *T. gondii*가 아닌 새로

운 원충을 확인하고 최초로 네오스포라포자충으로 명명하였다. 1988년 Dubey 등 [17]이 후구마비로 폐사한 개에서 이 원충을 세계 최초로 분리하였으며, 이어 1993년 Conrad 등 [11]은 소의 유산태아로부터 네오스포라포자충을 분리하였다.

지금까지의 연구 결과 네오스포라포자충의 감염으로 가장 큰 피해를 받는 소를 비롯한 사슴, 여우, 야생 설치류 및 닭 등은 이 원충의 중간숙주이고 개와 교묘테가 종숙주로 확인되었다 [10, 15, 21, 26].

우리나라에서도 1996년 경기도 소재 젖소사육 목장에서 임신 6개월령에 유산된 태아가 네오스포라포자충에 감염되었음을 김 등 [1]이 최초 보고한 이래, 1998년 김 등 [2]이 출생 직후 기립불능을 나타낸 젖소 신생 송아

\*Corresponding author: Eui-Kyung Hwang  
College of Life Science and Natural Resources, Sangji University, Wonju 220-702, Korea  
[Tel: +82-33-730-0531, Fax: +82-33-730-0503, E-mail: ekhwang@sangji.ac.kr]

지에서 네오스포라포자충을 분리하였으며, 이 원충이 유우에서 반복 유산을 일으킬 수 있다는 것도 확인되었다 [3]. 혈청학적 역학조사에 있어서는 1998년 허 등 [4]은 간접형광항체법을 이용하여 전국 9개도에서 사육하는 젖소에 대하여 검사한 바 젖소의 35.6%가 네오스포라포자충에 대한 항체를 보유하고 있다고 보고하여 이 병이 이미 전국적으로 문제가 되어 있음을 밝힌 바 있고, 2001년 허 등 [5]이 충남지역에서 사육하는 젖소와 한우에 대해 항체양성률을 조사하였으며, 2002년 Kim 등 [24]이 전국의 한우에 대한 항체양성률을 조사하였고, 2003년 황 [6]은 강원도내 사육 한우에 대한 항체양성률을 조사해 보고하였다.

그러나 아직까지 강원도내 사육 젖소에 대한 네오스포라포자충의 혈청학적 검사가 심도 있게 이루어지지 않았기에 이 지역에서 사육된 젖소에 대해 네오스포라포자충에 대한 항체 보유 실태를 파악하여 앞으로 이에 대한 연구 및 방역대책수립 등에 기초자료로 삼고자 이 조사를 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 검사 혈청

강원도 원주, 횡성, 홍천, 춘천 및 철원 소재 24개 젖소 사육농가에서 사육 중인 암소 315두와 도축장으로 출하된 젖소 수소 34두 등 총 349두를 대상으로 혈액을 채취하였다. 이를 혈액이 응고된 후 혈청은 분리한 다음, 검사 전까지  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 냉동보관하였다가 사용하였다.

### 검사용 항원 슬라이드

항원 슬라이드 제작을 위한 항원은 소에서 분리한 네오스포라포자충 국내분리주인 KBA-1 [25]을 사용하였고 항원슬라이드는 Yamane 등 [36]과 허 등 [4]의 방법에 준하여 제작하였다. 이를 간략히 설명하면 KBA-1을 Vero 세포에서 증식시킨 다음 감염세포를 세포배양 플라스크로부터 수확하여 원심분리하였다. 수확한 세포 pellet을 23G 주사바늘을 통과시켜 세포를 파괴시켜 네오스포라포자충 tachyzoite를 노출시킨 후 이를 percoll 용액을 이용 농축시킨 다음에  $1\mu\text{L}$ 당 300-400개의 tachyzoite가 포함되도록 농도를 조절한 후 teflon 코팅된 12 well 슬라이드에 well당  $10\mu\text{L}$ 씩 가한 다음 2% paraformaldehyde 함유 PBS로 고정시켰다. 이 슬라이드를  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다가 혈청검사에 사용하였다.

### 간접형광항체검사(indirect fluorescent antibody test: IFAT)

IFAT는 Yamane 등 [36]과 허 등 [4]의 방법에 준하여

실시하였다. 이를 간략히 기술하면 한우 혈청을 PBS(pH 7.4)로 200배 희석한 혈청을 네오스포라포자충 tachyzoite가 코팅된 12 well 슬라이드 위에 각 well당  $10\mu\text{L}$ 씩 분주하고  $37^{\circ}\text{C}$  습상에서 1시간 반응시킨 다음 5분간 수세하는데, 세척과 세척 사이에는 0.05% Triton X-100을 함유한 PBS로 씻어주었다. 그리고 슬라이드상의 습기를 헤어드라이어로 건조한 다음 2차 항체로는 100배 희석한 fluorescein-conjugated goat anti-bovine IgG(Cappel, USA)를 각 well당  $10\mu\text{L}$ 씩 분주하고 위와 같은 방법으로 반응시킨 후 세척하였다. 이어서 마운팅용 용액(mounting fluid)으로 봉입하고 형광현미경(Olympus Optical, Japan)으로 관찰하였다. 반응 판정 기준은 슬라이드에 부착된 tachyzoite의 표면 전체에서 형광을 발하는 것만을 양성으로 판단하였고, 표준양성혈청 및 표준음성혈청은 Dr. Yamane(일본 가축위생시험장)로부터 분양을 받은 소 혈청을 각각 매 검사 시에 사용하였다.

## 결 과

### 항체양성률

강원도 지역 사육 젖소에서 네오스포라포자충에 대한 혈청 항체양성률을 조사하기 위하여 총 349두(암소 315두 및 수소 34두)의 혈청을 대상으로 검사를 실시하였다. 전체 젖소의 항체 양성률은 27.5%였으며, 이를 성별로 분리하여 보면 암소의 항체 양성률은 28.9%인데 비하여 수소의 항체 양성률은 14.7%로 나타나 암소가 수소에 비해 항체 양성률이 높았다(Table 1).

### 농가별 항체양성률

농가별로 항체 양성률을 조사한 바 전체 검사 농가 24개 중 단 2개의 농가를 제외한 22개 농가에서 사육 중인 젖소에서 항체가 검출되어 농가별 항체 양성률은 91.7%였다(Table 2).

**Table 1.** Seroprevalence of antibodies to *Neospora (N.) caninum* in dairy cattle according to their sex raised in Kangwon province

Sex	No of heads	No of positive	%
Female	315	91	28.9
Male	34	5	14.7
Total	349	96	27.5

**Table 2.** Seroprevalence of antibodies to *N. caninum* in dairy farms located in Kangwon province

No of farms	No of positive	%
24	22	91.7

**Table 3.** Seroprevalence of antibodies to *N. caninum* in dairy cows according to herd size of each farm

	Herd size				Total
	20	≤ 21~30	31~40	≥ 41	
No of farms	8	9	4	3	24
No of heads	70	129	71	45	315
No of positive	18	41	23	9	91
%	25.7	31.8	32.2	20.0	28.9

**Table 4.** Seroprevalence of antibodies to *N. caninum* in dairy cows according to their age raised in Kangwon province

Sex	Age				Total
	≤ 2	3~4	5~6	≥ 7	
No of heads	56	117	124	18	315
No of positive	11	28	43	9	91
%	19.6	23.9	34.7	50.0	28.9

**Table 5.** Seroprevalence of antibodies to *N. caninum* in dairy cows according to their raised areas in Kangwon province

Area	No of heads	No of positive	%
Wonju	157	46	29.3
Wheongsung	78	27	34.6
Hongcheon	45	13	28.9
Chuncheon	20	3	15.0
Cheolwon	15	2	13.3
Total	315	91	28.9

### 젖소 사육 농가의 사육규모별 양성률

젖소 사육농가에 대해 사육규모별로 분류하여 보면 20두 이하 사육농가의 항체양성률은 25.7%, 21~30두 사육농가 31.8%, 31~40두 사육농가 32.4% 및 41두 이상 사육농가 20%였다(Table 3).

### 젖소 암소의 나이별 항체양성률

젖소 암소에 대해 나이별로 항체양성률을 비교하여 보면 2년생 이하가 19.6%, 3~4년생은 23.9%, 5~6년생은 34.7%, 7년생 이상은 50%로 나이가 많아질수록 항체양성률 또한 현저히 높아지는 경향을 나타내었다(Table 4).

### 지역별 항체양성률

강원도내 젖소 사육 지역별 항체양성률은 지역별로 차이가 있었는데 횡성군이 34.6%로 가장 높았고, 이어 원주시가 29.3%, 홍천군이 28.9%, 춘천시가 15.0%였으며 철원군이 13.3%로 가장 낮았다(Table 5).

## 고 찰

네오스포라포자충증(neosporosis)의 혈청학적 진단방

법으로는 IFAT와 enzyme linked immunosorption assay (ELISA)가 주로 활용되고 있다 [7, 8, 14, 18, 35]. Paré 등 [31]은 소의 혈청내 항체를 검출하기 위하여 네오스포라포자충 tachyzoite lysate 항원을 이용한 ELISA를 개발하였으며 ELISA 항원으로 개에서 분리된 원충주를 이용하던 또는 소에서 분리된 원충주를 이용하던 상관 없이 같은 시험결과를 얻었다고 하였다. 그러나 Dubey 등 [19]은 네오스포라포자충 tachyzoite lysate 항원으로 사용한 ELISA는 근육포자충(*Sarcocystis* spp.)을 인공 접종한 소의 혈청과 교차반응이 일어나기 때문에 소에서는 ELISA보다는 IFAT가 네오스포라포자충증의 혈청학적 진단에 더욱 유용함을 확인한 바 있다. 이번 조사에서는 국내에서 진단기술이 확립되어 널리 활용되고 있는 IFAT를 이용하였다 [4, 5, 24].

어미 소 혈청에서 네오스포라포자충 특이항체를 검사하는 것은 이 원충의 감염으로 인한 소의 유산 가능성을 추정하고, 본 질병을 혈청역학적으로 조사하는데 있어 유용한 방법이다 [11, 31]. 이 때 혈청의 희석배율은 진단상 중요한 의미를 가지며, 네오스포라포자충에 대한 항체 양성 판정 기준이 되는 소 혈청의 최적 희석배율은 연구자들에 따라 다소 차이가 있으나 태아의 혈청이나 체액(body fluid)의 경우에는 1:80, 어미 소 혈청의 경우 1:200에서 가장 특이성이 높은 것으로 알려져 있다 [8, 14]. 따라서 이번 조사에서도 유우의 혈청을 1:200으로 희석하여 사용하였고, 결과의 판독에 있어서는 Dr. Yamane로부터 분양받은 양성 및 음성표준혈청을 매 검사 시마다 각각 대조 혈청으로 사용하였으며, Paré 등 [31]과 허 등 [4]의 판정방법에 근거하여 slide glass에 코팅된 원충 항원(tachyzoite) 표면 전체에서 형광이 발하는 것만을 양성으로 판단하였다. 즉 tachyzoite 표면의 일부 또는 침단부에서만 형광을 발하는 경우에는 비특

이적 반응으로 간주하고 음성으로 판정하였다.

지금까지 소에서 네오스포라포자충에 대한 항체 보유 현황을 조사하여 보고한 바에 의하면 항체양성률은 젖소에 비하여 비육우는 보다 낮은 경향을 보였는데 미국에서는 동일지역에 대한 조사 결과는 아니나 젖소의 항체양성률이 26.9%와 27.5%인데 비하여 [20, 28], 비육우는 23.5%였고 [34], 동일지역에서 실시한 조사에서도 벨기에의 경우 젖소는 28.6%인데 비육우는 14.0%였고 [13], 스페인의 경우 젖소는 36.8%인데 비육우는 17.9%였고 [32], 이태리의 경우 젖소는 11.4%인 반면 비육우는 6.0%였고 [30], 아르헨티나의 경우 젖소는 27.6%인데 비육우는 9.7%였고 [27], 파라과이의 경우 젖소는 36.0%였는데 비육우는 26.6%였다 [29]. 국내에서는 허 등 [4]이 1998년 유우에서 네오스포라포자충에 대한 항체양성률을 전국적으로 조사한 바 전체적으로 35.6%의 젖소가 항체양성이었다고 보고하였으며, 2001년 허 등 [5]은 충남지역 4개 시군에 사육 중인 젖소와 한우에 대해 조사한 바 젖소는 64.2%, 한우는 47.8%가 네오스포라포자충에 대해 항체양성을 나타내었다고 보고하였다. 2002년 Kim 등 [24]은 국내 사육 한우에 대해 전국적으로 항체양성률을 조사한 바 4.1%가 네오스포라포자충에 대해 항체양성을 나타내었다고 보고하였다.

이번 조사에서 강원도내 사육 젖소의 항체양성률은 27.5%로 나타났는데 이는 허 등 [4]이 강원도 소재 유산 발생 농장 사육 젖소의 항체양성률 51.6%보다는 높았고 유산미발생 농장 사육 젖소의 항체양성률 18.3%보다는 낮았고 전체 젖소의 항체양성률 29.7%와는 거의 같았으며, 황 [6]이 강원도 사육 한우의 항체양성률이 17.9%라고 보고한 것에 비하여 높아 강원도에서도 외국이나 국내의 보고와 같이 젖소가 한우에 비하여 항체양성률이 높음을 알 수 있었다. 한우에 비하여 젖소의 항체양성률이 높은 이유로는 일반적으로 단기간 사육된 후 출하되는 한우에 비하여 젖소는 비교적 오랜 기간 사육되는 점과 사육방식에 있어서도 한우는 대부분 폐쇄된 공간에서 네오스포라포자충의 종숙주이자 감염원으로 밝혀진 [12, 15] 개와의 접촉이 제한된 상태로 사육되는데 비하여 젖소는 보다 개방된 공간에서 개와 직접적인 접촉이 보다 용이한 상태로 사육되기 때문인 것으로 여겨지며 [26], 또한 2003년 Kim 등 [23]이 국내 야생너구리의 네오스포라포자충에 대한 조사에서 항체양성률이 23%라고 보고한 바 있어 야생너구리가 네오스포라포자충의 전염에 영향을 미쳤을 가능성도 있으나 이에 대하여는 앞으로 보다 더 많은 연구가 이루어져야 할 것이다.

조사대상 젖소의 성별 항체양성률은 수소에 비하여 암소가 높았는데 이는 수소는 한우처럼 비육용으로 사

육되었고 나이는 2세 이하인 반면에 암소는 3~6세가 76.5%로 대부분이어서 암소의 나이가 더 많았던 것과 연관이 있는 것으로 생각되었으며 이는 Razmi 등 [33]의 보고와 일치하였다.

조사대상 젖소의 사육 지역별 항체양성률은 황성이 34.6%로 가장 높았고 철원은 13.3%로 가장 낮았는데 이는 지역별로 사육환경이 다른데 기인한 차이일 수도 있으나 검사두수의 차이에서 오는 것도 간과할 수 없으리라 여겨졌다.

이번 연구 결과 국내에서 조사된 다른 연구결과와 마찬가지로 강원도 지역에서 사육하는 젖소에서도 상당수가 네오스포라포자충에 노출되어 있음이 밝혀졌다. 이 질병에 대하여는 아직까지 유효한 예방약 또는 치료제가 개발되어 있지 않기 때문에 가능한 예방대책으로는 항체양성반응을 나타낸 소는 도태순위 결정시 우선적으로 고려되어야 하며 특히 유산의 원인이 이 원충의 감염에 의한 것으로 밝혀진 소는 즉시 격리시킨 후 신속히 도태시켜야 할 것이며, 또한 이 원충의 종숙주이면서 소에서 이 병을 전파하는데 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀진 개가 소와 접촉하는 것을 우선적으로 차단하여야 하고 이외 야생 설치류, 고양이 및 조류 등의 분변 또는 분비물로부터 사료나 음수원이 오염되지 않도록 하는 차단방역 및 유산된 태아 및 후산과 같은 분비물에 개나 다른 소가 접근하지 못하도록 하는 방안 등이 있다 [7, 12, 14, 26].

이 질병의 효과적인 방역을 위해서는 앞으로 개의 감염실태 파악과 개의 감염률과 소의 감염률간의 상관성 등에 대한 조사와 이 질병의 예방백신 및 치료제의 개발 등에 대한 연구가 시급한 것으로 판단된다.

## 결 론

강원도내 사육 젖소에 대하여 네오스포라포자충 항체 보유 실태를 파악하기 위해 원주, 황성, 홍천, 춘천 및 철원 소재 24개 젖소 사육농가에서 사육 중인 암소 315두와 도축장으로 출하된 젖소 수소 34두 등 총 349두를 대상으로 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 후 IFAT 방법으로 혈청학적 조사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 전체 젖소의 항체 양성률은 27.5%(96/349)였으며, 이를 성별로 분리하여 보면 암소의 항체양성률은 28.9%, 수소의 항체양성률은 14.7%로 나타나 암소가 수소에 비해 항체양성률이 높았다.

2. 젖소 사육 농장에 대한 항체양성률은 91.7%였다.

3. 젖소 암소의 나이별 항체양성률은 2년 이하는 19.6%였고, 3~4년생은 23.9%, 5~6년생은 34.7% 및 7년 이상

은 50.0%였다.

3. 강원도내 젖소 사육 지역별 항체양성률은 횡성군이 34.6%로 가장 높았고, 원주시가 29.3%로 그 다음이었으며, 이어 홍천군 28.9%, 춘천시 15.0% 및 철원군 13.3% 순이었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 강원도내 사육 젖소의 네오스포라포자충에 대한 항체양성률은 성별, 나이별, 사육지역별로 다소의 차이를 보이고 있으며, 이미 많은 젖소가 네오스포라포자충에 노출되어 있다는 사실이 입증됨으로써 앞으로 이에 대한 예방과 관리에 대한 연구가 시급한 것으로 판단된다.

## 감사의 글

이 논문은 2008년도 상지대학교 교수 연구년제 지원에 의한 것임.

## 참고문헌

- 김대용, 황우석, 김재훈, 허권, 황의경, 이병천, 진영화, 이재진, 최상호. *Neospora*에 의한 소 유산 발생. 대한수의학회지 1997, **37**, 607-612.
- 김재훈, 손현주, 황의경, 황우석, 허권, 진영화, 이병천, 이재진, 강영배, 산근일랑, 김대용. 국내 소에서 *Neospora caninum*의 분리. 대한수의학회지 1998, **38**, 139-145.
- 김재훈, 황의경, 손현주, 진영화, 윤순식, 김대용. *Neospora caninum*에 의한 젖소의 반복유산. 대한수의학회지 1998, **38**, 853-858.
- 허권, 김재훈, 황우석, 황의경, 진영화, 이병천, 배지선, 강영배, 산근일랑, 김대용. 간접형광항체법을 이용한 국내 젖소의 *Neospora caninum*에 대한 혈청역학적 연구. 대한수의학회지 1998, **38**, 859-866.
- 허인, 김영진, 김희, 허진희, 박일규, 강승원, 정우석. 소에서 *Neospora caninum*에 대한 항체가 조사. 한국가축위생학회지 2001, **24**, 9-14.
- 황의경. 강원도 사육 한우에서 *Neospora caninum*에 대한 항체양성률 조사. 대한수의학회지 2003, **43**, 283-288.
- Anderson ML, Andrianarivo AG, Conrad PA. Neosporosis in cattle. Anim Reprod Sci 2000, **60-61**, 417-431.
- Barr BC, Anderson ML, Sverlow KW, Conrad PA. Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test. Vet Rec 1995, **137**, 611-613.
- Buxton D, McAllister MM, Dubey JP. The comparative pathogenesis of neosporosis. Trends Parasitol 2002, **18**, 546-552.
- Costa KS, Santos SL, Uzda RS, Pinheiro AM, Almeida MAO, Arajo FR, McAllister MM, Gondim LFP. Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*. Int J Parasitol 2008, **38**, 157-159.
- Conrad PA, Barr BC, Sverlow KW, Anderson M, Daft B, Kinde H, Dubey JP, Munson L, Ardans A. *In vitro* isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine fetuses. Parasitology 1993, **106**, 239-249.
- De Marez T, Liddell S, Dubey JP, Jenkins MC, Gasbarre L. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. Int J Parasitol 1999, **29**, 1647-1657.
- De Meerschman F, Speybroeck N, Berkvens D, Rettigner C, Focant C, Leclipteux T, Cassart D, Losson B. Fetal infection with *Neospora caninum* in dairy and beef cattle in Belgium. Theriogenology 2002, **58**, 933-945.
- Dubey JP. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. Vet Parasitol 1999, **84**, 349-367.
- Dubey JP, Buxton D, Wouda W. Pathogenesis of bovine neosporosis. J Comp Pathol 2006, **134**, 267-289.
- Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. J Am Vet Med Assoc 1988, **192**, 1269-1285.
- Dubey JP, Hattel AL, Lindsay DS, Topper MJ. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. J Am Vet Med Assoc 1988, **193**, 1259-1263.
- Dubey JP, Lindsay DS. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. Vet Parasitol 1996, **67**, 1-59.
- Dubey JP, Lindsay DS, Adams DS, Gay JM, Baszler TV, Blagburn BL, Thulliez P. Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. Am J Vet Res 1996, **57**, 329-336.
- Dyer RM, Jenkins MC, Kwok OCH, Douglas LW, Dubey JP. Serologic survey of *Neospora caninum* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups. Vet Parasitol 2000, **90**, 171-181.
- Gondim LFP. *Neospora caninum* in wildlife. Trends Parasitol 2006, **22**, 247-252.
- Hemphill A, Gottstein B. A European perspective on *Neospora caninum*. Int J Parasitol 2000, **30**, 877-924.
- Kim JH, Kang MS, Lee BC, Hwang WS, Lee CW, So BJ, Dubey JP, Kim DY. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs and raccoon

- dogs in Korea. Korean J Parasitol 2003, **41**, 243-245.
24. **Kim JH, Lee JK, Hwang EK, Kim DY.** Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in Korean native beef cattle. J Vet Med Sci 2002, **64**, 941-943.
  25. **Kim JH, Sohn HJ, Hwang WS, Hwang EK, Jean YH, Yamane I, Kim DY.** *In vitro* isolation and characterization of bovine *Neospora caninum* in Korea. Vet Parasitol 2000, **90**, 147-154.
  26. **McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM.** Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int J Parasitol 1998, **28**, 1473-1478.
  27. **Moore DP, Campero CM, Oden AC, Posso MA, Cano D, Leunda MR, Basso W, Venturini MC, Späth E.** Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. Vet Parasitol 2002, **107**, 303-316.
  28. **Ortega YR, Torres MP, Mena KD.** Presence of *Neospora caninum* specific antibodies in three dairy farms in Georgia and two in Texas. Vet Parasitol 2007, **144**, 353-355.
  29. **Osawa T, Wastling J, Acosta L, Ortellado C, Ibarra J, Innes EA.** Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Paraguay. Vet Parasitol 2002, **110**, 17-23.
  30. **Otranto D, Llazari A, Testini G, Traversa D, Frangipane di Regalbono A, Badan M, Capelli G.** Seroprevalence and associated risk factors of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy. Vet Parasitol 2003, **118**, 7-18.
  31. **Paré J, Hietala SK, Thurmond MC.** Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. J Vet Diagn Invest 1995, **7**, 273-275.
  32. **Quintanilla-Gozalo A, Pereira-Bueno J, Tabarés E, Innes EA, González-Paniello R, Ortega-Mora LM.** Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. Int J Parasitol 1999, **29**, 1201-1208.
  33. **Razmi GR, Mohammadi GR, Garrosi T, Farzaneh N, Fallah AH, Maleki M.** Seroepidemiology of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Mashhad area, Iran. Vet Parasitol 2006, **135**, 187-189.
  34. **Sanderson MW, Gay JM, Baszler TV.** *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. Vet Parasitol 2000, **90**, 15-24.
  35. **Williams DJ, McGarry J, Guy F, Barber J, Trees AJ.** Novel ELISA for detection of *Neospora*-specific antibodies in cattle. Vet Rec 1997, **140**, 328-331.
  36. **Yamane I, Kokuho T, Shimura K, Eto M, Shibahara T, Haritani M, Ouchi Y, Sverlow K, Conrad PA.** *In vitro* isolation and characterisation of a bovine *Neospora species* in Japan. Res Vet Sci 1997, **63**, 77-80.