

부산지역 사육 소의 네오스포라 항체 양성률에 관한 연구

박민식[†] · 이승미
축산물위생검사소

Seroprevalence of Antibodies to *Neospora Canium* in Cattle Raised in Busan Metropolitan City

Park Min-sik[†] and Lee Seung-mi
Veterinary Service Laboratory

Abstracts

Neospora canium has been considered as one of the major causes of abortion in a wide range of animals. Since cows having *N. canium* antibodies show higher tendency of abortion than intact ones and calves without clinical signs can also be carriers of this pathogen, the survey of serological prevalence of *N. canium* in cattle can be important in epidemiology. However, there was no prevalence report of *N. canium* in cattle farms in Busan metropolitan city. In this study, total 280 blood samples of Hanwoo and Holstein were collected from 51 farms and carried out to investigate the rate of seropositive antibodies using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). As the result, the serological prevalences of farm and individual cow were 13.7% (7 out of 51 farms) and 5.4% (15 out of 280 cows), respectively.

Key words : *Neospora canium*, cattle, seroprevalence

서 론

*Neospora canium*은 분류학상 Apicomplexa문, Coccidiasina아강, Eucoccidiorida목, Sarcocystidae과, Neospora속에 속하는 편성 세포내 기생원충(protozoa)으로 소에서 유산을 일으키는 중요한 원인체로 알려져 있으며, 1988년 Dubey가 최초로 분리, 보고하기 전까지는 형태학적으로 매우 유사한 *Toxoplasma gondii*로 잘못 알려져 있었다^{1),2)}. 실제로 1988년 Dubey 등이 미국의 Angel Memorial 동물병원에서 지난 40년간 톡소플라스마 유사질병(toxoplasmosis-like illness)으로 진단된 30여 증례에 대한 조직절편과 혈청을 대상으로 재검사를 실시한 결과 10예에서 *Toxoplasma gondii*가 아닌 새로운 원충의 감염임을 확인하고 이 원충을 *Neospora canium*으로 명명하였고 이어 후구마비로 폐사한 개에서

원충에 의한 근육염과 신경염 소견을 관찰하고 세포배양법을 이용해 이 원충을 세계 최초로 분리하였다³⁾.

본 원충은 뇌척수염 및 근염을 나타낸 개에서 최초로 확인되어 알려지기 시작하였으며 이외에도 염소, 양, 말, 사슴 등에서 자연발생 예가 확인되었으며^{4)~8)} 또한 고양이, 마우스, 돼지, 원숭이 등에서 실험감염 예가 보고되었다¹⁾. 지금까지 연구결과 네오스포라 감염으로 가장 큰 피해를 받는 소를 비롯한 사슴, 여우, 야생설치류 및 닭 등이 이 원충의 중간숙주이고 개와 코요테가 종숙주로 확인되었다^{2), 9)~11)}. 국내에서는 임신 6월령 젖소 유산태아에서 *N. canium* 감염을 최초로 보고한 바 있으며, 동일한 어미 젖소에서 본 원충감염으로 인한 반복유산이 증명되기도 하였다^{12), 13)}.

*N. canium*의 생활사에서 나타나는 tachyzoite, bradyzoite, oocyst가 감염에 관련되어 있으며, 개는 bradyzoite가 포

[†] Corresponding author, E-mail : vet38@korea.kr
Tel : +82-51-888-6819, Fax : +82-51-338-8266

함된 조직을 먹이로 섭취하여 감염되고, 소는 oocyst가 포함된 먹이나 물을 경구 섭취하여 감염된다. 태반감염은 임신기에 tachyzoite가 감염된 어미소로부터 태아에 옮겨짐으로써 성립되는 것으로 알려졌다¹⁴⁾. 임상증상의 하나인 유산은 임신3개월 이후부터 나타나는데, 주로 5~6개월째에 나타난다. 2월령 이하의 송아지에서는 신경증상, 기립불능이 나타나며, 임상증상이 나타나지 않을 수도 있다고 보고되었다¹⁵⁾. 임상증상을 나타내지 않는 송아지는 만성적인 잠복감염으로 감염원이 될 수 있기 때문에 감염통제에 중요한 의미를 지닌다고 할 수 있다¹⁶⁾. *Neospora canium*에 대한 항체를 가지고 있는 소는 항체를 가지고 있지 않은 소에 비해 더 많이 유산하는 경향이 있으며, 혈청 항체 양성인 암소에서 선천적으로 감염되어 태어난 송아지의 95%는 임상증상을 나타내지 않는다고 알려졌다¹⁵⁾.

*N. canium*에 대한 혈청학적 진단법으로는 원충 tachyzoite를 이용한 간접형광항체법, 원충의 다양한 성분을 이용한 효소결합면역진단법(Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay, ELISA), 면역조직화학적 염색법, 네오스포라응집반응법(NAT), PCR을 이용한 검출법 등이 있다^{15), 17)~22)}.

타지역에서는 연구가 활발히 진행되고 있지만 아직까지 부산 지역 사육우에 대한 네오스포라병에 대한 검사가 심도 있게 이뤄지지 않았기에 *N. canium*에 대한 항체보유실태를 파악

하고 더 나아가 네오스포라병에 의한 유산비율 등에 대한 관련자료축적 및 네오스포라병 방역대책수립에 기초자료로 삼고, 또한 네오스포라병에 대한 농가교육·홍보를 위해 본 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

공시재료

2012년 2월부터 12월까지 사육규모를 감안하여 구·군(강서구, 금정구, 기장군)별로 안배한 후 무작위로 51농가를 선정하여 한우 223두, 젃소57두 총 280두(부산시 사육규모의 약8.5%)를 채혈하고 혈청을 분리하였으며 분리된 혈청은 -20 ℃에서 냉동보관하며 이번시험에 사용하였다.

검사 및 방법

Neospora canium ELISA : IDEXX Neospora antibody test kit (IDEXX Switzerland AG, Liebefeld-bern, Swizerland)를 사용하였으며, 실험은 제조사의 설명에 따라 실시하였다. 키트에 포함된 혈청 희석액 90 μ l를 항원이 코팅된 마이크로 플레이트에 분주하고 가검혈청 10 μ l를 분주하여 최종희석배수 10배가 되도록 하였다. 그 후

Table 1. *N. canium* seropositive rate for breeds of cattle

Breed	Heads		Farms	
	Positive/Test	Positive (%)	Positive/Test	Positive (%)
Hanwoo	5/223	2.2	1/44	2.3
Holstein	10/57	17.5	6/7	85.7
Total	15/280	5.4	7/51	13.7

Table 2. *N. canium* seropositive rate for regions

Area		Hanwoo		Holstein		Total	
		Test	Positive(%)	Test	Positive(%)	Test	Positive(%)
Gangseo	Farms	16	1(6.3)	5	4(80)	21	5(23.8)
	Heads	88	5(5.7)	39	8(20.5)	127	13(10.2)
Gumjeong	Farms	5	0(0)	0	0(0)	5	0(0)
	Heads	20	0(0)	0	0(0)	20	0(0)
Gijang	Farms	23	0(0)	2	2(100)	25	2(8.0)
	Heads	115	0(0)	18	2(11.1)	133	2(1.5)

37 °C에서 1시간 배양하고 10배 농축 새척액을 증류수와 1:9비율로 희석 후 각 Well당 300 μ l씩 3번 세척을 하였다. 세척된 마이크로 플레이트에 Anti-Ruminant IgG-PO conjugate를 100 μ l씩 첨가하고 37 °C에서 1시간 배양하였다. 다시 새척액 300 μ l로 3회 세척 후 TMB기질액을 100 μ l씩 분주하여 실온(18 °C~25 °C)에서 15분간 정치하였다. 그 후 stop solution을 100 μ l씩 분주하여 반응을 정지시키고 흡광도 파장 450 nm에서 측정하였다. 샘플흡광도에서 음성대조액의 흡광도를 뺀 보정값을 양성대조액과 음성대조액 흡광도의 차이로 나누어 구하여 0.3미만은 음성, 0.3이상 0.4미만은 의양성, 0.4이상은 양성으로 판정하였다.

결 과

부산지역 사육우의 *Neospora canium*의 항체 보유율을 알아보기 위해 ELISA검사를 실시하였다. 총51농가 280두를 검사하였다. 검사대상 중 7농가 15두에서 양성을 나타내었다.

품종별 항체 양성률

전체 검사대상 280두 중 한우가 223두, 젃소가 57두였다. 검사결과 항체양성은 한우에서는 1농가 5두였고 젃소에서는 6농가 10두로 젃소에서 높은 항체양성률을 나타내었다. 이는 한우에서는 항체양성률이 낮고 젃소에서는 항체양성률이 높은 타지역경향과 대체로 유사했으며 양성률은 타지역보다 낮은편이었다.

지역별 항체 양성률

부산지역에서 10두 이상 소를 사육하는 구군을 대상으로 선정하였다. 강서구 21농가 127두, 금정구 5농가 20두, 기장군 25농가 133두를 대상으로 하였으며, 이중 항체 양성을 나타낸 곳은 강서구 5농가 13두였으며 이중 젃소가 4농가 8두, 한우가 1농가 5두였다. 기장군은 2농가 2두가 양성이었으며 이들 모두 젃소였다. 금정구에서는 항체양성개체가 없었다. 농가별 양성률은 강서구 23.8%, 금정구 0%, 기장군 8.0%였으며 개체별 양성률은 강서구 10.2%, 금정구 0%, 기장군 1.5%가 항체양성으로 나타났다.

고 찰

네오스포라는 원충성기생충에 의한 질병으로 소에서 유산산이 문제시 되고 있고 또한 타지역에서는 연구가 활발히 진행중 이지만 부산지역 사육우를 대상으로는 연구결과가 없기에 이번 연구를 실시하였다. *N. canium*의 혈청학적 진단법으로는 간접형광항체법(Indirect Fluorescent Antibody Test, IFAT)과 효소결합면역진단법(Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay, ELISA), 네오스포라 응집반응(Neospora Agglutination Test, NAT) 등이 활용되고 있지만 소의 혈청 내 항체를 검출하기 위해 *N. canium* tachyzoite 항원을 이용한 ELISA를 개발하여 실험한 결과 간접형광항체법보다 검출효율이 우수하다고 알려져 있다.^{17)~22)}

지금까지 발표된 *N. canium*의 항체양성률에 관한 해외 연구결과를 보면 젃소가 비육우보다 높게 나타났다^{23)~30)}.

국내의 경우 김 등이 소 유산태아에서 *Neospora canium* 감염을 최초로 보고한 이래¹²⁾ 허 등은 전국 198개 젃소목장을 검사한 결과 목장별 양성률은 53.5%, 개체별 양성률은 35.6%로 보고하였으며³¹⁾, 2001년에는 충남지역 사육 젃소 및 한우를 대상으로 젃소의 경우 목장별 양성률은 93.3%, 개체별로는 64.2%라 보고하였으며 한우의 경우 각각 78.6%, 47.8%로 보고하였다³²⁾. 타지역 자료의 경우도 수치에서 차이는 있으나 양성률이 젃소에서 높고, 한우에서 낮은 경향이 공통적이었다^{16), 33)~41)}.

부산지역의 경우 타지역의 네오스포라 항체 양성률보다는 전반적으로 낮은 5.4%로 나타났지만, 젃소의 경우만을 놓고 본다면 농가별 양성률은 85.7%, 개체별 양성률은 17.5%로 비교적 높게 나타났다. 특히 강서지역 젃소의 경우 농가별 양성률은 80%로, 개체별 양성률은 20.5%로 높았다. 이런 결과는 박 등이 연구한 경남지역 내 소 *Neospora canium*에 대한 감염률조사³⁴⁾에서 항체 양성농가가 가장 많았던 김해시와 지역적으로 인접한 것과 관련이 있는 것으로 추정된다. 경남 김해지역의 농가별 양성률은 59.1%, 개체별 양성률은 13.8%였다. 젃소 농가에서 높은 항체형성률을 나타내는 이유는 명확하지는 않으나 젃소농가의 경우 대규모로 사육하는 경우가 많다는 점과 외부인의 왕래(집유차 등)가 잦다는 것이 이유일 것으로 추정된다. 항체양성률이 높은 농가의 경우 *N. canium*의 종숙주인 개를 사육하고 있었으며 이를 통한 순환감염여부가 의심된다. 금정구에서 항체양성농가가 없었던 이유는 젃소 농가가 없었으며 상대적으로 사육규

모가 작았기 때문으로 생각된다. 기장군은 사육규모에 비해 상대적으로 낮은 양성률을 나타내었으며 지리적으로도 강서, 김해 지역에서 떨어져 있다는 것도 하나의 요인으로 추정된다.

소에서 유산을 일으키는 요인은 질병에 의한 것뿐만 아니라 질병이외의 다른 요인도 많다. 축주들 역시 유산의 원인을 질병에 의한 가능성외에도 스트레스 등 다른 요인에 의한 유산을 의심하는 경우도 많고, 또한 질병에 감염이 된 경우일지라도 정상분만하기도 하는 등 유산여부가 다양하여 간과되기 쉬운 실정이다. 네오스포라에 의한 유산은 논문으로는 익히 알려져 있지만 농가에서는 이 질병에 대한 지식이 전무한 실정이다. 실제로 검사농가를 대상으로 질의해본 결과 이 질병에 대한 지식이 있는 경우는 단 한건도 없었다. 네오스포라 감염증은 아직까지 유효한 약제 및 백신이 개발되어 있지 않기 때문에, 항체양성측 색출시 우선적으로 도태를 권고하고, 종숙주인 개의 접촉을 차단하는 등 질병의 차단을 위해 농가홍보를 적극적으로 실시하는 노력이 방역기관에서 필요할 것으로 생각된다. 또한 농가에서 사육중인 개의 감염실태 조사 등도 추후 연구되어야 할 것으로 판단된다.

결 론

부산지역 사육 우에 대한 네오스포라 항체 보유실태를 파악하기 위해 2012년 2월부터 12월까지 11개월간 총 51 농가 280두를 대상으로 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 후 ELISA 방법으로 혈청학적 조사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 전체 사육우에 대한 항체양성률은 5.4%였고 이를 축종별로 세분화 하면 한우의 경우 2.3%였으며 젃소의 경우 17.5%로 나타났다.
2. 농가별 항체 양성률은 젃소농가의 경우 85.7%였고 한우농가의 경우 2.27%였다.
3. 지역별 항체 양성률은 강서구가 10.2%로 높게 나타났으며 기장군은 1.5%였으며 금정구에서는 나타나지 않았다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 네오스포라 항체양성률은 축종에 따라 지역에 따라 차이를 보이고 있으며, 특히 젃소농가에서 높은 항체 양성률이 나타났다. 따라서 이에 대한 예방과 관리에 대한 연구가 시급한 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Dubey JP, Recent advances in *Neospora* and neosporosis, *Vet Parasitol*, 84, pp.349~367(1999).
2. McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Et Al, Dogs are definitive hosts of *Neospora canium*, *Int J Parasitol*, 28(9), pp.1473~1478(1998).
3. Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Et Al, Newly recognized fatal protozoan disease of dogs, *J Am Vet Med Assoc*, 192, pp.1269~1285(1988).
4. Barr BC, Anderson ML, Woods LW, Et Al, Neospora-like protozoal infections associated with abortion in goats, *J Vet Diagn Invest* 4, pp.365~367(1992).
5. Bjerkas I, Mohn SF, Presthus J, Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs, *Z Parasitenkd*, 70, pp.271~274(1984).
6. Dubey JP, Hartley WJ, Lindsay DS, Et Al, Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb, *J Parasitol*, 76, pp.127~130(1990).
7. Dubey JP, Rigoulet J, Lagourette P, Et Al, Fatal transplacental neosporosis in a deer (*Cervus eldi siamensis*), *J Parasitol*, 82, pp.338~339(1996).
8. Marsh AE, Barr BC, Madigan J, Et Al, Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis, *J Am Vet Med Assoc*, 209, pp.1907~1913(1996).
9. Costa KS, Santos SL, Uzda RS, Et Al, Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora canium*, *Int J Parasitol*, 38, pp.157~159(2008).
10. Dubey JP, Buxton D, Wouda w, Pathogenesis of bovine neosporosis, *J Comp Pathol*, 134, pp.267~289(2006).
11. Godium LFP, *Neospora canium* in wildlife, *Trend Parasitol*, 22, pp.247~252(2006).
12. 김대용, 황우석, 김재훈 등, *Neospora*에 의한 소 유산 발생, *대한수의학회지*, 37, pp.607~612(1997).
13. 김재훈, 황의경, 손현주 등, *Neospora canium*에 의한 젃소의 반복유산, *대한수의학회지*, 38, pp.853~858(1998).
14. Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM,

- Epidemiology and control of Neosporosis and *Neospora canium*, Clin Microbiol Rev, 20(2), pp.323~367(2007).
15. Dubey JP, Review of *Neospora canium* and neosporosis in animal, Kor J Parasitol, 41(1), pp.1~16(2003).
 16. 김지은, 손장원, 양윤모 등, 농협 서울축산물공판장 도축우에서의 *Neospora canium* 혈청항체 양성률 조사, 한국가축위생학회지, 34(2), pp.179~185(2011).
 17. Conrad PA, Sverlow K, Anderson M, Et Al, Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental neospora infection, J Vet Diagn Invest, 5(4), pp.572~578(1993).
 18. Lally NC, Jenkins MC, Dubey JP, Evaluation of two *Neospora canium* Recombinant antigens for use in an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of bovine neosporosis, Clin Diagn Lab Immunol, 3(3), pp.275~279(1996).
 19. Lindsay DS, Dubey JP, *In vitro* development of *Neospora canium* (Protozoa : Apicomplexa) from dogs, J Parasitol, 75(1), pp.163~165(1989).
 20. Paré 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(3), pp.352~359(1995).
 21. Romand S, Thulliez P, Dubey JP, Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora canium* infection, Parasitol Res, 84(1), pp.50~53(1998).
 22. Scharres G, Conraths FJ, Reichel MP, Bovine neosporosis comparison of serological methods using outbreak sera from a dairy herd in New Zealand, Int J Parasitol, 29(10), pp.1659~1667(1999).
 23. De Meerschman F, Speybroeck N, Berkvens D, Et Al, Fetal infection with *Neospora canium* in dairy and beef cattle in Belgium, Theriogenology, 58(5), pp.933~945(2002).
 24. Dyer RM, Jenkins, MC, Kwok OC, Et Al, Serologic survey of *Neospora canium* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland risk of serologic reactivity by production groups, Vet Parasitol, 90(3), pp.171~181(2000).
 25. Koiwai M, Hamaoka T, Haritani M, Et Al, Seroprevalence of *Neospora canium* in dairy and beef cattle with reproductive disorders in Japan, Vet Parasitol, 130(1~2), pp.15~18(2005).
 26. Moore DP, Campero CM, Odeón AC, Et Al, Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora canium* in Argentina, Vet Parasitol, 107(4), pp.303~316(2002).
 27. Ortega YR Torres MP, Mena KD, Presence of *Neospora canium* specific antibodies in three dairy farms in Georgia and two in Texas, Vet Parasitol, 144(3~4), pp.353~355(2007).
 28. Otranto D, Llazari A, Testini G, Et Al, Seroprevalence and associated risk factors of Neosporosis in beef and dairy cattle in Italy, Vet Parasitol, 117(4), pp.301~308(2003).
 29. Quintanilla-Gozalo A, Pereira-Bueno J, Tabares E, Et Al, Seroprevalence of *Neospora canium* infection in Spain, Int J Parasitol, 29(8), pp.1201~1208(1999).
 30. Sanderson MW, Gay JM, Baszler TV, *Neospora canium* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States, Vet Parasitol, 90(1~2), pp.15~24(2000).
 31. 허 권, 김재훈, 황우석 등, 간접형광항체법을 이용한 국내 젖소의 *Neospora canium*에 대한 혈청역학적 연구, 대한수의학회지, 38(4), pp.859~866(1998).
 32. 허 인, 김영진, 김 희 등, 소에서 *Neospora canium*에 대한 항체가 조사, 한국가축위생학회지, 24(1), pp.9~14(2001).
 33. 권미순, 정재명, 이지영 등, 남원지소 관내 한우와 홀스타인 비육우에서 *Neospora canium* 감염실태 조사, 한국가축위생학회지, 31(1), pp.79~86(2008).
 34. 박애라, 하대식, 조성숙 등, 경남 지역내 소 *Neospora canium*에 대한 감염률 조사, 한국가축위생학회지, 33(2), pp.151~156(2010).
 35. 이민권, 박종식, 김민희 등, 경남북부지역의 소 *Neospora canium* 및 *Toxoplasma gondii* 항체양성률 조사, 한국가축위생학회지, 34(3), pp.245~250(2011).
 36. 정재명, 권미순, 윤여백 등, 정읍지역에서 사육중인 한우에서 *Neospora canium* 항체양성률 조사, 한국가축위생학회지, 28(2), pp.99~106(2005).
 37. 전영훈, 장영술, 이은미 등, 울진군 한우 *Neospora*

- canium* 감염실태조사, 한국가축위생학회지, 31(3), pp.363~367(2008).
38. 추금숙, 형상기, 임정철 등, 전북 익산지역 젖소에서 네오스포라, 요네병, 백혈병 및 브루셀라에 대한 항체가 조사, 한국가축위생학회지, 30(1), pp.95~102(2007).
39. 황의경, 강원도 사육 한우에서 *Neospora canium*에 대한 항체양성률 조사, 대한수의학회지, 43(2), pp.283~288(2003).
40. 황의경, 강원도 사육 젖소의 네오스포라 포자충 (*Neospora canium*)에 대한 항체양성률 조사, 대한수의학회지, 50(1), pp.19~24(2010).
41. Kim JH, Lee JK, Hwang EK, Et Al, Prevalence of antibodies to *Neospora canium* In Korean native beef cattle, J Vet Med Sci, 64(10), pp.941~943(2002).