

정읍지역에서 사육중인 한우에서 *Neospora caninum* 항체 양성을 조사

정재명¹, 권미순, 윤여백, 한규삼

전라북도 축산진흥연구소 정읍지소
(접수 2005. 1. 20, 개재승인 2005. 3. 5.)

Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in Korean indigenous cattle in Jeongeup province

Jae-Myong Jeong¹, Mi-Soon Kweon, Yeo-Baik Yoon, Kyu-Sam Han

¹Jeongeup-branch, Jeonbuk Livestock Development & Research Institute, 580-814, Korea

(Received 20 January 2005, accepted in revised from 5 March 2005)

Abstract

This survey was carried out to investigate the seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in Korean indigenous cattle that was representative livestock raised in Jeongeup province Jeonbuk Korea. A total of 1,162 sera were tested for *N caninum* antibodies using ELISA (Herdcheck anti-*Neospora*, IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine USA). 15(1.3%) sera were positive by ELISA. A total of 290 farms were tested, 11 (3.8%) farms were positive. Among the seroprevalence of cattle according to the areas, 8 of 44 counties were infected *N caninum*. Sero-positive 11 farms of *N caninum* antibodies using ELISA test and 62 of 301 sera (20.6%) were infected to *N caninum*.

We found that cattle be raised in Jeongeup province was slightly infected to *N caninum*. It seems to be infected of *N caninum* an early stage, but the positive rates was variable that it was 6%~62%. It was supposed to the highest positive rate of 3 farms had some factors to be infected. The factors were supposed to keep dogs yearly, located the base of hills, and almost feed with imported dried grass. Farmers suppose to the cause of abortion was not the neosporosis but also broke out an accident or was infected *Brucella* spp. The results of Brucella Rose Bengal Test (RBT) were all negative.

Key words : *Neospora caninum*, Seroprevalence, Korean indigenous cattle, ELISA

¹ Corresponding author

TEL : +82-63-535-3526, FAX : +82-63-535-9118

E-mail : jeongjm@empal.com

서 론

*Neospora caninum*은 분류학상 Apicomplexa문 Coccidia아강, Sarcocystidea과에 속하는 원충성 기생충으로서 소에서 유산 또는 기형 송아지를 발생시키는 neosporosis의 원인체이다¹⁾. 본 원충은 뇌척수염 및 근염을 나타낸 개에서 최초로 확인되어 알려지기 시작하였으며²⁾ 이외에도 염소³⁾, 양⁴⁾, 밀⁵⁾, 사슴⁶⁾ 등에서 자연발생 예가 확인되었다. 또한 고양이, 마우스, 돼지, 원숭이 등에서 실험감염 예가 보고되었다¹⁾. *N. caninum*의 감염은 수직감염과 수평감염이 모두 이루어진다. 일부 숙주 동물에서 태반을 통한 감염이 증명되었으며, 소에서는 수직감염이 본 질병의 주된 감염경로로 알려져 있다¹⁾. 개는 원충에 감염 또는 오염된 조직을 섭취함으로써 감염되며, 분변을 통하여 원충의 oocyst를 배설한다. 최근 개의 분변을 통하여 외계에 저항성을 갖는 oocyst가 배출되고 다시 재감염에 성공함으로써 개가 종숙주임이 밝혀졌다¹⁾. 임상증상은 주로 2개월령 이하의 송아지에서 나타나며, 주로 체중감소, 기립불능, 보행장애 등을 나타낸다¹⁾. 성우에서는 유산 외에는 거의 임상증상을 나타내지 않으며, 특히 선천적으로 감염되어 있으나 임상증상을 나타내지 않는 송아지의 경우 만성적인 감염으로 이행되기 때문에 본 질병에 대한 관심이 높아지고 있는 실정이다.

국내에서는 임신 6개월령 젖소 유산태아에서 *N. caninum* 감염을 최초로 보고한 바 있으며, 동일한 어미 젖소에서 본 원충감염으로 인한 반복유산이 증명되기도 하였다^{7,8)}.

네오스포라증에 대한 혈청학적 진단법으로는 원충 tachizoites를 이용한 간접형 광항체법(indirect fluorescent antibody test: IFAT)^{9,14)}과 원충의 다양한 성분을 이용한 ELISA^{10,11)}에 의한 검사 방법, H-E 염색에

의한 광학현미경적 관찰, 면역조직화학적 염색법¹²⁾, 네오스포라 응집반응을 위해 포르말린으로 불활화된 원충이 원충 특이 면역 글로불린을 응집하는 원리를 이용한 *Neospora* agglutination test (NAT)¹³⁾법이 확립되어 있다.

정읍지역에서 사육중인 한우에서 *N. caninum*에 대한 혈청학적 검사가 아직 심도 있게 이루어지지 않았고 특히, 2003년 정읍지역 한우에서 발생하여 농가에 막대한 손실을 끼친 브루셀라병과 그 임상증상이 비슷하여 농가에서는 소가 유사산시 떠올리는 질병이 브루셀라병이 되었고, 이런 이유에서 농가에 대한 *N. caninum*에 의한 유사산의 피해를 홍보하고자 하였다. 또한, 사육두수 규모로 비교하여 볼 때 전국시군에서 경주를 제외하면 가장 많은 한우를 사육하고 있고 최근 정읍지역에서 사육되고 있는 한우에 대한 브랜드화 사업추진을 위한 고급육 생산에 있어 결림돌이 될 수 있는 여러 요인 중 하나로 *N. caninum*에 대한 항체 보유 실태를 파악하여 앞으로 이에 대한 연구 및 방역대책 수립 등을 위한 기초 자료로 이용하고자 이 조사를 실시하였다.

재료 및 방법

공시혈청

2004년 2월부터 2004년 4월까지 정읍지역 10두 이상사육하고 있는 한우 농가 중 지역별로 균등하게 무작위로 추출된 290농가 1,162두의 한우에서 혈액을 채취하였다. 이를 혈액이 응고된 후 혈청을 분리한 다음 검사 전까지 -20°C에 냉동 보관하였다가 본 시험에 공시하였다.

ELISA 검사

ELISA검사는 *Neospora caninum* Anti body Test Kit (Herdcheck anti-*Neospora*, sensitivity 100%, specificity 98.9%, IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine USA)를 구입하여 제조사의 설명에 의거 검사하였다. 희석한(1:100) 가검혈청을 100 ul 씩 분주하여 실온에서 30분 동안 배양한 후 약 300 ul의 PBS로 4회 세척하고 goat anti-bovine: HRPO conjugate를 100 ul씩 가한 다음 실온에서 30분 동안 배양하고 다시 PBS로 세척한 후 TMB 기질용액을 100 ul 씩 분주하여 실온에서 15분간 배양한 후 stop solution을 100 ul씩 가하고 흡광도(620 nm, 630 nm 또는 650 nm)에서 측정하여 S/P 비율이 0.5 이상은 양성으로 판정하고 0.5 미만은 음성으로 판정하였다.

브루셀라병검사(RBT)

N caninum ELISA 검사결과 양성으로 판정된 농가에서 사육되고 있는 한우 11농가 301두에 대상으로 브루셀라병 로즈뱅갈 검사를 실시하였다. 진단액은 대성미생물연구소에서 판매하는 브루셀라병 로즈뱅갈 진단액을 사용하였다. 로즈뱅갈 진단액과 가검혈청을 실온에서 1시간 정도 방치한 후 혈청 30μl와 로즈뱅갈 진단액 30μl를 혼합하여 4분 이내에 응집될 경우 양성, 응집이 되지 아니할 경우 음성으로 각각 판단하였다.

결 과

ELISA검사결과

정읍지역에서 사육되고 있는 한우에서 *N caninum*의 감염실태를 알아보기 위하여 290

농가 1,162 두에 대한 ELISA 검사를 실시한 결과 11 농가(3.8%) 15두(1.5%)에서 양성으로 판정되었다(Table 1).

Table 1. *Neospora caninum* seropositive ratio for Korean indigenous indigenous cattle by ELISA

	Positive / Test	Positive (%)
Farms	11 / 290	3.8
Heads	15 / 1,162	1.3

지역별 감염률

정읍지역에서 한우를 사육하고 있는 290 농가에 대한 1차 스크리닝 검사에서 양성농가로 판정된 농가는 11농가(Fig 1)였으며, 입암면을 제외하고는 3개면이 인접된 영원면, 이평면, 정우면과 4개 읍면동이 그리고 철보면, 용동면, 산내면, 상동이 서로 인접된 지역이었다.

양성농가 항체양성을률

1차 스크리닝 검사에서 양성 판정된 11 농가에 대한 가임암소 전두수 검사를 실시하였다. 감염농가 11농가에서 사육하고 있는 가임암소에 대한 채혈 검사결과 총 301두 중 62두가 양성으로 판정되어 20.6%가 감염된 것으로 조사되었다(Table 2). 10.0% 이하의 양성을 보인 농가가 2호, 20.0% 이하가 6농가, 30.0% 이하가 1농가, 60.0% 이상 중감염되어 있는 농장이 2농가였다. 농가 별로는 산내면 소재 농가가 26두 중 16두가 양성으로 판정되어 62.0%, 이평면 소재 농가가 10두 중 6두가 양성으로 판정되어 60.0%의 감염률을 보였으며, 용동면 소재 농가가 16두 중 1두가, 입암면 1농가가 34두 중 2두가 양성으로 판정되어 6.0%의 감염률을 보였다.

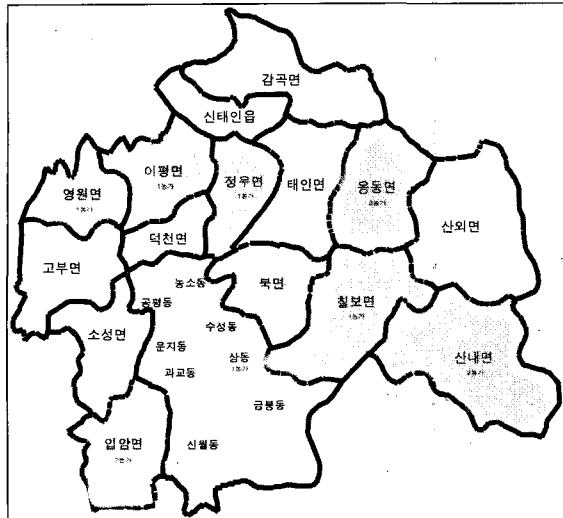


Fig 1. The colored regions and number of farms are infected to *Neospora caninum* in Jeongeup

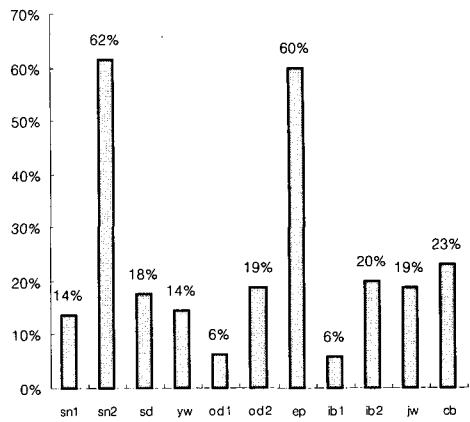


Fig 2. Positive rates of *Neospora caninum* on farms in Jeongeup province by Elisa test

Table 2. The results of ELISA test to detected *Neospora caninum* antibodies and Brucella Rose Bengal test

Test	ELISA		RBT	
	+	-	+	-
Total	301	62	239	301
sn 1	73	10	63	73
2	26	16	10	26
sd	17	3	14	17
yw	7	1	6	7
od 1	16	1	15	16
2	74	14	60	74
ep	10	6	4	10
ib 1	34	2	32	34
2	15	3	12	15
jw	16	3	13	16
cb	13	3	10	13

로즈뱅갈검사 결과

N. caninum 항체검사를 위한 ELISA 검사 결과 양성으로 판정된 11 농가 301 둘에 대한 로즈뱅갈 검사를 실시하였다. 검사결과 농장주의 한우사육 경력은 5년부터 30년까

지 다양하였고 본인 농장에서 유사산을 경험하였으나 평상시 사고로 인한 유산으로 인식하고 있었다. 따라서 브루셀라병 및 *N. caninum*에 의한 유산으로 판단하지 않은 대부분의 농장주는 유사산 발생이 전혀 없었다고 답변하였고, ELISA 검사결과 양성으로

판정된 농장의 전두수에 대한 로즈뱅갈 검사결과 전두수 음성으로 판정되었다.

고 칠

*N caninum*의 혈청학적 진단방법으로는 간접형광항체법(indirect fluorescent antibody test, IFAT)과 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)와 immunoblot(IB)이 활용되고 있으나, 위 검사방법에 따라 통계학적으로 유의성은 없다고 보고된 바 있다¹¹⁾. Pare 등¹⁴⁾은 소의 혈청내 항체를 검출하기 위하여 *N caninum* tachyzoite lysate 항원을 이용한 ELISA를 개발하였으며 ELISA 항원으로 개에서 분리된 원충주를 이용하든, 또는 소에서 분리된 원충주를 이용하든 같은 시험 결과를 얻었다고 하였다.

지금까지 소에서 *N caninum*에 대한 항체 보유 현황을 조사하여 보고한 바에 의하면 항체양성을은 젖소에 비하여 비육우가 더 낮았는데 일례로 미국에서는 지역은 다르지만 젖소의 항체양성을이 30.7%인데 비하여 비육우는 23.5%였고^{15,16)}, 동일지역에서 동시에 실시한 조사에서도 벨기에의 경우 유우는 28.6%인데 비육우는 14.0%였다¹⁷⁾.

국내에서는 허 등¹⁸⁾이 1998년 유우에서 *N caninum*에 대한 항체양성을 전국적으로 조사한바 전체적으로 35.6%가 항체양성이었으며 이를 다시 유사산이 급증하였던 목장과 그렇지 않은 목장의 항체 양성을로 구별하여 보면 전자는 48.7%인데 비하여 후자는 20.7%로 심한 차이를 보여 이 병이 국내 소 유사산중이 원인임을 간접적으로 입증한 바 있다. 또한 2001년 허 등¹⁹⁾은 충남지역 4개 시군에서 사육중인 유우와 한우에 대해 조사한바 유우는 64.2%, 한우는 47.8%가 항체 양성을 나타내었다고 보고하였으며, 2002년 Kim 등²⁰⁾은 국내 사육 한우에 대해 전국적으로 항체 양성을 조사한 바 4.1%가 *N caninum*에 대해 항체 양성을 나타내었다고 보고하였고, 강원지역의 한우 항체 양성을이

17.9%라는 보고²²⁾도 있었는데 이는 조사시기와 조사 대상지역간의 차이 및 조사대상 소의 나이 등에 따른 차이에 원인이 있는 것으로 보고하였다.

이번 조사에서 전북 정읍지역 사육 한우의 항체 양성을은 농가별 3.8%, 검사두수로는 1.3%로 나타났고, 감염농장에서 사육중인 11농가에 대한 가임암소 전체에 대한 검사결과 20.6%로 2001년 허 등¹⁹⁾이 보고한 항체가 보다는 낮은 수준을 보였다. 전북 정읍지역에서도 외국의 경우와 같이 비육우에 해당하는 한우가 유우에 비하여 항체 양성을이 낮음을 알 수 있었다. 유우에 비하여 비육우의 항체 양성을이 낮은 이유는 일시적으로 단기간 사육된 후 출하되는 한우에 비하여 유우는 비교적 오랜 기간 사육되는 젖과 사육방식에 있어서 비육우는 대부분 폐쇄된 공간에서 개 등 다른 동물과 직접적인 접촉이 보다 용이한 상태로 사육되기 때문인 것으로 생각된다.

전체 290농가에 대한 검사결과 11농가가 감염된 것으로 조사되었지만 감염농장에서 사육중인 가임암소에 대한 검사결과 301두 중 62두가 *N caninum*에 감염되어 20.6%로 조사된 것은 아직 감염 확산된 농장은 적지만 일단, 감염된 농장에서 감염률은 6%~62%까지 다양하였으며, 감염된 농장 중 일부에서는 심각한 수준의 감염률을 보여주었다(Fig 2).

축주들은 6두 이상 양성인 4농가에서는 유산을 경험하였으나, *N caninum*으로 인한 유산으로 인식하지 못하였고, 해당개체에 대한 브루셀라병 검사결과는 모두 음성이었다. 즉, 농장의 환경여건에 따라 항체 양성을 차이를 볼 수 있었는데, 11농가 모두 *N caninum*의 종숙주인 개를 사육하고 있거나, 과거(6개월 이내)에 개를 1두 이상 사육하였던 농장이었으며 그중 가장 높은 62%의 양성을 보인 1농가는 20여년간 개를 소와 함께 사육하고 있었으며, 야생동물의 출현이 있는 산 밑에 위치한 농장이었고, 조사료(수입건초 포함)를 구입(TMR 등)하여 사육

결 론

하는 농장이었다. 60%의 양성을 보인 농장의 경우 번식장애를 보여 사육 중이던 번식우중 일부를 도태한 경력을 갖고 있었으며, 전반적으로 농가들 모두 네오스포라병에 대한 인식이 전무한 상태였다. 또한, 인근에서 가축의 분변을 쌓아두어 자연발효 후 거름으로 사용한 조사료를 구입하여 사육하고 있었다. 따라서 아직 감염되지 않은 농장에 *N caninum*에 대한 홍보 및 질병 유입 차단을 위한 교육이 필요한 것으로 판단되었다.

이번 연구 결과 국내에서 조사된 다른 연구결과와 마찬가지로 전북정읍지역에서 사육하는 한우에서도 상당수가 *N caninum*에 노출되어 있음이 밝혀졌다. 이 질병에 대하여는 지금까지 유효한 예방약 또는 치료제가 개발되어 있지 않기 때문에 가능한 예방 대책으로는 항체양성 반응을 나타낸 소는 도태순위 결정시 우선적으로 고려되어야 할 것이다. 특히, 유산의 원인이 이 원충의 감염에 의한 것으로 밝혀진 소는 즉시 격리시킨 후 신속히 도태시켜야 할 것이며, 또한 이 원충의 종숙주이면서 소에서 병을 전파하는데 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀진 개가 소와 접촉하는 것을 우선적으로 차단하여야 하고 이외 야생 설치류, 고양이, 조류 등의 분변 또는 분비물로부터 사료나 음수원이 오염되지 않도록 하는 차단방역, 유산된 태아 및 후산과 분비물에 개나 다른 소가 접근하지 못하도록 하는 방안 등이 있다^{21,7,19,23)}.

이 질병의 효과적인 방역대책 추진을 위해서는 감염경로에 대한 역학조사가 필수적일 것으로 판단된다. 따라서 현재 사육중인 개나, 기타 동물들에 대한 감염률 조사와 수입건초와 분변을 거름으로 사용하여 재배한 조사료를 사료용으로 사용하고 있는 것에 의한 감염률과의 상관관계 등 다각적인 역학조사가 동시에 이루어져야 할 것으로 판단되며 이 질병의 예방백신 및 치료제 개발 등에 대한 연구가 시급한 실정인 것으로 여겨진다.

*N caninum*은 모우에서 유·사산 및 조산 등을 일으키는 중요한 원인체로 주로 젖소에 대한 연구가 이루어지고 있으나, 한우에 대한 조사는 미흡한 실정이다. 본 조사에서는 정읍지역에서 사육중인 한우를 대상으로 *N caninum*의 감염실태를 파악하고자 혈청학적 검색을 실시하여 아래의 결과를 얻었다.

1. 전북지역의 약 40.0%를 차지하고 있는 한우사육두수에 비하여 감염률은 1.5%를 보여 감염률은 낮았으나, 감염농장에 대한 검사결과 11농가에서 사육중인 301두 중 62두가 감염된 것으로 조사되어 20.6%의 감염률을 보였다. 또한 농가별로는 62.0%까지 높은 감염률을 보인농장부터 6.0%의 감염률을 보이는 등 다양한 감염양상을 보였다.
2. 지역별로 감염률은 특이적 소견을 보이는 지역은 없었으나 44개 읍면동중 8개 면이 연접되어 감염지역 띠를 형성하는 양상을 나타내었다
3. *N caninum*에 감염된 농장의 전 개체에 대한 브루셀라병 로즈뱅갈검사 결과는 모두 음성이었다.

이상의 결과에서 정읍지역에서 사육되고 있는 한우에 대한 *N caninum*에 대한 감염은 3.5%로 감염초기로 보여지나, 감염농장에 대한 검사결과 20.6%의 감염률을 보여 감염농장에서는 *N caninum*에 대한 피해가 예상되어 이를 예방하기 위한 농가홍보 및 방역대책 마련이 필요한 것으로 사료되었다. 또한, 효과적인 방역대책 추진을 위해서 사육중인 개나, 기타 동물들에 대한 감염률 조사와 수입건초와 분변을 거름으로 재배한 조사료 등에 의한 감염률 등 감염경로에 대한 다각적인 역학조사가 동시에 이루어져야 할 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Dubey JP. 1999. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet Parasitol* 84 : 349-367.
2. Bjerkas I, Mohn SF, Presthus J. 1984. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z Parasitenkd* 70 : 271-274.
3. Barr BC, Anderson ML, Woods LW, et al. 1992. *Neospora*-like protozoal infections associated with abortion in goats. *J Vet Diagn Invest* 4 : 365-367.
4. Dubey JP, Hartley WJ, Lindsay DS, et al. 1990. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. *J Parasitol* 76 : 127-130.
5. Marsh AE, Barr BC, Madigan J, et al. 1996. Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis. *J Am Vet Med Assoc* 209 : 1907-1913.
6. Dubey JP, Rigoulet J, Lagourette P, et al. 1996. Fatal transplacental neosporosis in a deer (*Cervus eldi siamensis*). *J Parasitol* 82 : 338-339.
7. 김대용, 황우석, 김재훈 등. 1997. *Neospora*에 의한 소 유산 발생. 대한수의학회지 37 : 607-612.
8. 김재훈, 황의경, 손현주 등. 1998. *Neospora caninum*에 의한 젖소의 반복 유산. 대한수의학회지 38 : 853-858.
9. Conrad PA, Sverlow KW, Anderson ML, et al. 1993. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. *J Vet Diagn Invest* 5 : 572-578.
10. Lally NC, Jenkins MC, Dubey JP. 1996. 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.
11. Schares GF, Conraths JM, Reichel P. 1999. Bovine neosporosis : comparison of serological methods using outbreak sera from a dairy herd in New Zealand. *J Parasitol* 29 : 1659-1667.
12. Lindsay DS, Dubey JP, 1989. In vitro development of *Neospora caninum* (Protozoa : Apicomplexa) from dogs. *J Parasitol* 75 : 163-165.
13. Romand S, Thulliez P, Dubey JP. 1988. Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora caninum* infection. *J Parasitol* 84 : 50-53.
14. Paré J, Hietala SK, Thurmond MC. 1995. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp infection in cattle. *J Vet Diagn Invest* 7 : 352-359.
15. Dyer RM, Jenkins MC, Kwok OCH, et al. 2000. Serologic survey of *Neospora caninum* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups. *Vet Parasitol* 90 : 171-181.
16. Sanderson MW, Gay JM, Baszler TV. 2000. *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. *J Parasitol* 90 : 15-24.
17. De Meerschman F, Speybroeck N, Berkvens D, et al. 2002. Fetal infection with *Neospora caninum* in dairy and beef cattle in Belgium. *Theriogenology* 58 : 933-945.
18. 허권, 김재훈, 황우석 등. 1998. 간접형 광항체법을 이용한 국내 젖소의 *Neospora caninum*에 대한 혈청학적 연구. 대한수의학회지 38 : 859-866.
19. 허인, 김영진, 김희 등. 2001. 소에서

- Neospora caninum*에 대한 항체가 조
사. 한국가축위생학회지 24 : 9-14.
20. Kim JH, Lee JK, Hwang EK, et al.
2002. Prevalence of antibodies to
Neospora caninum in Korean native
beef cattle. *J Vet Med Sci* 64(10) :
941-943.
21. Anderson, ML, Andrianarivo AG, Conrad
PA. 2000. Neosporosis in cattle. *Anim*
Reprod Sci 60-61 : 417-431.
22. 황의경. 2003. 강원도 사육 한우에서
*Neospora caninum*에 대한 항체 양성을
조사. 대한수의학회지 43(2) : 283-288.
23. McAllister MM, Dubey JP, Lindsay
DS, et al. 1998. Dogs are definitive
hosts of *Neospora caninum*. *Int J
Parasitol* 28 : 1473-1478.