Korean J. Vet. Res. Vol. 8, No. 2 (1968) 98—109

피로플라스마病에 關한 硏究

實驗動物에 對한 感染試驗및 그 形態學的 變化에 對하여

農村振興廳 家畜衛生硏究所
韓 台 愚

Ⅰ 緖 論

우리나라에 있어서 피로플라스마原虫의 分布調査및 人工感染에 對하여 報告를 한바와 같이 原虫의 消長은 그 變動이 甚하였으며 形態도 1958年 日本의 石原[7]가 調査한 것과 類似하게 나왔으며 그 形態變動도 時期에 따라 甚하였다. 우리나라에서 本原虫을 처음 發見한 것은 1912年 時重[10]에 依해서 였고 1925年 井野場[12]가 또確認 하였으며 이것을 *Babesia bigemina*라고 報告하였다. 1927年 中路및 佐藤은 本原虫에는 小型과 大型이 있는데 小型이 大部分이며 大型이 1.6~10%까지 混合感染되여 있다고 하였다. 1963年 孫[9]의 調査에 依하면 調査牛中 原虫保有牛는 94.6%이며 形態學的으로는 Gonderi mutans 또는 日本의 小型피로플라스마와 같다고 하였고 *Babesia bigemina*와 같은 大型이 16%나 나왔다고 하였다. 著者들이 調査[15]한 것도 역시 日本에서 流行하는 小型피로플라스마와 形態學的으로 類似하였으며 牛의 液原性에 있어서도 日本의 小型피로플라스마와 大同小異하였다고 본다. 그러나 우리나라에 流行하고 있는 小型피로플라스마를 좀더 詳細히 檢討하기 爲해서 實驗動物에 對하여 感染試驗및 血液內에 있어서 原虫의 態度를 觀察하였다. 또한 保虫血液을 實驗動物의 腹腔內에 接種하여 腹腔內에서 原虫이 變形되여 나가는 生活史를 觀察하기 爲해서 本試驗을 遂行하였다.

Ⅱ 材料 및 方法

A. 實驗動物

牛：3~4個月令의 乳犢牛를 使用하였다.

Mice：本硏究所에서 飼育하는 15gm程度의 White mouse를 使用하였다.

Guinea Pig：크기 80gm程度의 것을 使用하였다.

Rat：크기 25gm程度되는 것을 使用하였다.

家兎：우리나라의 雜種家兎로써 重量은 2kg程度의 것을 使用하였다.

鷄：安養地方에서 飼育한 白色레구혼種의 成鷄를 使用하였다.

鷄卵：白色레구혼種의 有精卵을 使用하였다.

B. 接種에 使用된 血液

人工感染시켰던 脾臟摘出牛 第1號및 2號의 血液을 使用하였으며 各己 血液은 100視野當 239個의 原虫을 保有하고 있음을 確認하였다.

C. 實驗方法

原虫을 保有하고 있는 소의 頸靜脈에서 採血하여 纖維素를 除去하고 腹腔과 頸靜脈에 注射하였다.

血液塗抹標本의 製作은 保虫血液을 各各 200ml式 腹腔內에 注射하여 注射後 3, 22, 30, 46, 64, 70, 78, 94, 102, 118時間에 各各 接種部位에서 採血하여 塗抹標本을 만들었다. 또한 一方的으로 冷藏庫內에 保充血液을 保管하면서 4, 8, 12, 16, 20, 25時間으로 區分하여 血液塗抹標本을 作成 鏡檢하였다. 이것을 25時間後 Mice腹液內에 再注射하여 그形態를 觀察하였다.

牛：牛腹腔內에 纖維素를 除去한 血液 50ml를 接種하고 3, 22, 30, 46, 54, 70, 78, 94, 102, 118時間에 各各 採血하여 血液塗抹標本을 作成하여 鏡檢하였다.

Mice：(1) **靜脈內**：8마리의 白쥐에 0.3ml式 靜脈注射하였으며 注射後 3, 22, 30, 46, 54, 70, 78, 94時間에 接種部位에서 採血하여 塗抹標本을 作成하였다. 그中 마리는 對照로서 그대로 놓아 두었다.

(2) **腹腔內**：8마리에다 1마리당 保虫血液 1.0ml式 注射하였으며 注射後 3, 22, 30, 46, 54, 70, 78, 94時間마다 接種部位에서 採取하여 塗抹標本을 作成하였으며 그수는 對照로서 觀察만 하였다.

Guinea Pig：(1) **靜脈內**：8마리의 Guinea Pig靜脈에 保虫血液 2ml式 注射하였으며 注射後 接種部位로부터 採血하였다. 時間은 17, 25, 41, 49, 65, 73, 89, 97時間의 順으로 採血하여 塗抹標本을 作成하였으며 두마리는 對照로서 觀察만 하였다.

(2) **腹腔內**：8마리에다 한마리당 保虫血液 10ml式 注射하였으며 注射部位로 부터 3, 22, 30, 46, 54, 70,

78, 94時間의 順으로 採取하여 塗抹標本을 作成하였으며 그中 2首는 對照로서 觀察만 하였다.

家兎：(1) **靜脈內**：4마리에다가 한 마리당 5ml式 保虫血液을 注射하였으며 注射後 3, 23, 30, 47, 54, 71, 78, 95時間의 順으로 注射部位에서 採血하여 塗抹標本을 作成하였으며 한 마리는 對照로서 觀察만 하였다.

(2) **腹腔內**：4마리에다 各各 20ml式 注射하였으며 3, 23, 30, 47, 54, 71, 78, 95時間의 順으로 注射部位에서 採取하여 塗抹標本을 作成하였으며 한마리는 觀察만 하였다.

Rat：(1) **靜脈內**：8마리를 使用했으며 한마리당 1ml式 靜脈注射하였다. 注射後 3, 23, 30, 47, 54, 71, 78 95時間의 順으로 注射部位에서 採血하여 塗抹標本을 作成하였으며 두마리는 對照로 觀察만 하였다.

(2) **腹腔內**：8마리를 使用하였으며 한마리당 10ml式 注射하였다. 注射後 3, 23, 30, 47, 54, 71, 78, 95時間의 順으로 採取하여 塗抹標本을 作成하였으며 2마리는 觀察만 하였다.

鷄：(1) 靜脈內：네마리를 使用하였으며 1마리당 5ml式 翼靜脈에 注射하였다. 注射後 3, 23, 30, 47, 54, 71, 78, 95時間의 順으로 注射部位에서 採血하여 塗抹標本을 作成하였으며 한마리는 對照로 觀察만 하였다.

(2) 腹腔內：네마리를 使用했으며 1마리당 20ml 式 注射하였으며 3, 23, 30, 47, 54, 71, 78, 95時間의 順으로 採取하여 塗抹標本을 作成하였으며 한마리는 觀察만 하였다.

發育鷄卵：孵化後 8日卵을 使用하였으며 保虫血液 0.3ml式 脈絡尿膜에 接種하였다. 그리하여 3, 21, 28, 45, 52, 69時間의 順으로 1個式 깨트려서 脈絡尿膜上의 接種血液 또는 胎兒에서 採取 塗抹標本을 作成하였다.

標本染色：Giemsa 染色을 使用했으며 無水앨콜로 5分間 固定後 Giemsa染色液에 40分間 染色하였다.

標本鏡檢：100視野를 限度로 觀察하였으며 1,000倍로 鏡檢하였다.

原虫의 分類한 形態

O型：小圓型 濃染部가 없는 原虫 Ⅳ型보다 小型이며 感染初期에 나타난다.

Ⅰ型：濃染 原形質量이 적은 原虫

Ⅱ型：Ⅰ型보다 大型이며 濃染 原形質量이 적은 原虫

Ⅲ型：原形質이 豊富한 柳葉狀의 原虫.

Ⅳ型：原形質이 더 많으며 西洋梨狀 또는 落下傘狀의 原虫.

Ⅴ型：楕圓型 卵圓型 또는 不正圓型의 原虫.

Ⅵ型：圓型의 原虫 明確한 圓型과 濃染部를 가지는 原虫.

Ⅶ型：아나풀라스마類似의 原虫 小圓型.

Ⅷ型：双球菌型의 核質部 2個의 原虫.

Ⅸ型：核質部가 3個의 原虫.

Ⅹ型：四球菌型의 核質部 4個를 가지는 原虫.

以上의 分類한 形態로서 分類하였다. 保虫血液은 5°C 冷藏庫內에 保存하였다.

表 1 牛腹腔內에 있어서 原虫形態學的 變化

Table 1. Morphological Variation of Piroplasma in the abdominal Cavity of Cattle.

Hours after injection	Cattle No.	Classification of Type											Total % of Type 8 to 10	No. of Piroplama
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
		Differential Count % Total %												
Original blood		–	23	37	27	7	4	2	–	–	–	–		262
3		6	33	35	21	5	–	–	–	–	–	–		323
22		–	20	32	29	6	5	5	–	1	1	1	3	282
30		–	2	20	36	23	12	2	–	1	1	3	5	320
46		–	–	4	11	24	25	12	5	10	4	5	19	292
54		–	–	–	–	5	7	9	7	15	22	35	72	243
70		–	–	–	–	2	4	4	5	10	32	43	85	231
78		–	–	–	–	–	2	5	5	10	24	54	89	225
94		–	–	–	–	–	–	4	2	8	24	62	94	164
102		–	–	–	–	–	–	–	–	10	25	65	100	113
118		–	–	–	–	–	–	–	–	9	19	72	100	92

Ⅲ. 實驗成績

冷藏庫內에 保虫血液 : 20時間以後 Ⅷ～Ⅹ型이 若干 增加하나 그形態는 委縮되었다. 그러나 이것은 Mouse 腹腔內에다 注射하면 原虫은 再次 原形質이 豊富해지고 Ⅰ～Ⅲ型은 漸次 相對的으로 Ⅷ～Ⅹ型으로 增加하여 갔다.

牛腹腔內 原虫의 狀態

牛腹腔內에 接種한 結果 3時間만의 檢査에서는 Ⅳ型까지 나왔으나 0型이 6個가 나왔고 全體虫數는 原接種血液의 虫보다 增加하였으며 22時間에서는 Ⅵ型을 빼놓고는 全體에서 나왔다. 虫數는 3時間때보다 減少하였다 30時間에는 虫은 增加하였으나 Ⅲ～Ⅳ型이 많았으며 46時間부터 漸次的으로 Ⅹ型으로 移動되여 갔다. 50時間에는 Ⅲ型以下는 全혀 찾아 볼수 없었으며 Ⅹ型이 第一 많이 檢出되였다. 102時間 118時間에는 Ⅷ～Ⅹ型만이 檢出되었으며 以後는 血球에서 虫을 찾아볼 수 없었다 그리고 血球外에도 虫이 脫出되여 있는 것이 많이 檢出되었다.

Mouse腹腔內 原虫의 狀態

腹腔內의 血液에 있어서 原虫은 減少하기 始作하여 46～54時間에는 急減하여 그 以後에는 檢出이 困難하였다. 赤血球內의 原虫을 時間的으로 檢査하면 時間이 經過됨에 따라서 Ⅰ～Ⅲ型이 減少하며 Ⅳ～Ⅵ型및 Ⅷ～Ⅹ型이 相對的으로 增加하였다. Ⅷ～Ⅹ型은 注射前에는 全혀 보지 못하였던 것이 22時間 以後에는 全型이 나타났으며 時間이 經過될수록 Ⅷ～Ⅹ型은 많아졌고 3號牛에서는 檢出된 原虫이 54時間에는 Ⅷ～Ⅹ型이 많이 檢出되었다. 0型은 어느 標本에서나 3～22時間에 나타났으며 3時間에 그數는 많았다. 特히 Ⅷ～Ⅹ型에는 血球

表 2 마우스 腹腔內에 있어서 原虫의 形態學的 變化

Table 2. Morphological Variation of Piroplasma in the abdominal Cavity of Mouse

Hours after injection	Mouse No.	Classification of Type 0	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ	Ⅶ	Ⅷ	Ⅸ	Ⅹ	Total % of Type Ⅷ to Ⅹ	No. of Piroplasma
		Differential Count %												
Original blood	1	–	27	31	36	5	1	–	–	–	–	–	–	239
23		22	15	15	20	16	12	–	–	–	–	–	–	67
22		6	6	12	36	7	23	1	1	1	4	3	8	176
30	Ⅰ	–	30	41	9	11	4	1	1	1	1	1	3	368
46		–	–	15	24	16	10	3	6	4	8	14	26	154
54		–	–	–	2	2	4	17	10	21	15	29	65	80
3		12	27	15	17	17	12	–	–	–	–	–	–	86
22		6	14	15	25	12	5	–	6	9	–	8	17	87
39	Ⅱ	–	15	18	19	5	8	–	8	8	9	10	27	171
46		–	–	–	24	13	17	–	11	12	10	13	35	118
54		–	–	–	–	–	–	–	5	34	32	29	95	41
70		–	–	–	–	–	–	8	19	31	–	42	73	26
3		34	9	14	19	10	10	–	1	–	1	2	3	123
22		13	8	28	24	8	6	1	1	1	4	6	11	126
30	Ⅲ	–	10	24	8	18	3	8	3	4	8	14	26	143
46		–	–	–	–	13	11	2	8	19	21	26	66	122
54		–	–	–	–	–	–	–	–	26	44	30	100	46
3		28	10	14	11	23	8	3	–	–	–	3	3	142
22		–	14	11	13	16	24	11	2	3	–	6	9	110
30	Ⅳ	–	–	8	19	10	7	9	9	11	11	16	38	130
46		–	–	–	8	7	15	10	6	20	16	18	54	73

54		–	–	–	–	–	–	–	23	23	29	25	77	48
3		2	15	51	16	11	3	–	–	2	–	–	2	144
22		–	5	41	14	25	6	2	–	1	3	3	7	155
30	Ⅴ	–	–	18	23	4	3	4	6	12	11	19	42	138
46		–	–	–	–	–	–	–	25	33	20	22	75	67
54		–	–	–	–	–	–	27	5	5	29	34	68	41
70		–	–	–	–	–	–	7	20	24	24	25	73	55

外로 나와 있는 것이 많았으며 Ⅴ～Ⅵ型에도 간혹 있었다. 그리고 72時間以後에는 血球에서는 原虫을 볼수가 없었다. 257時間以後 殺處分하여 各臟器, 心臟, 肝, 脾臟및 腹水等에서 捺印標本을 作成하여 檢鏡하였으나 原虫을 찾아볼 수 없었다. 그리고 供試動物은 死前에 臨床的으로 아무런 反應도 없었다.

Mouse 靜脈內에서의 原虫의 狀態

3時間에서 가장 많이 나왔고 時間이 經過됨에 따라

表 3 마우스靜脈內에 있어서 原虫의 形態學的 變化

Table 3. Morphological Variation of Piroplasna Circulating blood of mice intravenously

Hours after injection	Mouse No.	Classification of Type 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total % of Type Ⅲ to Ⅹ	No. of Piro-plasma
		Differential Count %												
Original blood	1	–	27	31	36	5	1	–	–	–	–	–	–	239
3		–	–	–	33	17	50	–	–	–	–	–	–	6
22		–	–	100	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2
30	Ⅰ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
46		–	–	–	100	–	–	–	–	–	–	–	–	1
54		–	–	33	33	–	–	–	–	34	–	–	34	3
3		–	83	–	17	–	–	–	–	–	–	–	–	6
22		–	–	–	50	50	–	–	–	–	–	–	–	2
30	Ⅱ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
46		–	–	–	100	–	–	–	–	–	–	–	–	2
54		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
70		–	–	–	100	–	–	–	–	–	–	–	–	1
3		–	–	33	–	33	–	–	–	34	–	–	34	3
22	Ⅲ	–	–	100	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1
30		–	–	100	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1
3		–	–	–	–	67	–	–	–	–	–	33	33	3
22		–	–	–	–	100	–	–	–	–	–	–	–	1
30	Ⅳ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
46		–	–	–	–	–	100	–	–	–	–	–	–	1
54		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
70		–	–	–	–	–	100	–	–	–	–	–	–	1
3		–	100	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1
22	Ⅴ	–	–	100	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1

1~2個 檢出되었을 뿐이며 臨床的으로 아무런 反應도 없었다. 257時間以後 殺處分하여 얻은 各臟器의 塗抹標本에서도 原虫을 發見할 수 없었다. Guinea-pig腹腔內에서의 原虫의 狀態接 接種後 22時間부터 赤血球數는 減少했으며 54時間以後에는 急減하였다. 78時間以後에는 血球數도 적었고 原虫도 찾어볼 수 없었다. 赤血球內에

表 4 기니픽 腹腔內에서의 原虫의 形態學的 變化

Table 4. Morphological Variation Piroplasma in the abdominal cavity Piroplasma Guinea pig intraperitioneally inoculated.

Hours after injection	guinea pig No.	Classification of Type											Total % of Type Ⅶ to Ⅹ	No. of Piro-plasma
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
		Differential Count%												
Original blood		–	27	31	36	5	1	–	–	–	–	–	–	239
3		6	6	26	40	15	6	–	–	–	–	1	1	251
22		–	–	31	40	10	1	2	1	1	2	12	15	323
30	Ⅰ	–	–	25	26	7	5	3	2	3	7	22	35	295
46		–	–	–	–	9	4	11	4	7	24	40	71(1)	286
54		–	–	–	–	–	–	10	1	3	32	52	87(2)	249
70		–	–	–	–	–	–	5	4	15	15	61	91	130
3		3	6	37	35	10	7	–	–	–	1	1	2	201
22		–	–	29	29	5	2	3	3	1	7	21	29	323
30	Ⅱ	–	–	29	29	4	–1	1	2	2	12	20	34	362
46		–	–	–	–	–	10	17	6	9	14	43	66(1)	402
54		–	–	–	–	2	4	–	5	26	15	48	89	110
3		6	1	41	45	5	1	–	–	–	–	–	–(1)	199
22		–	–	14	39	13	14	2	2	1	4	11	16	326
30	Ⅲ	–	–	11	33	9	2	1	1	3	9	31	43	277
46		–	–	–	–	–	8	25	–	5	25	36	66(1)	252
54		–	–	–	–	–	2	4	3	8	21	62	91	236
70		–	–	–	–	–	–	4	2	8	24	62	94	157
3		3	1	40	37	11	2	1	–	–	–	2	2(3)	199
22		–	–	7	31	21	6	1	1	1	12	19	32(1)	396
30	Ⅳ	–	–	–	–	14	5	7	2	9	25	38	72	166
46		–	–	–	–	1	4	35	2	3	20	35	58	331
54		–	–	–	–	–	4	9	2	8	9	68	85	215
70		–	–	–	–	–	–	–	–	10	25	65	100	49
3		–	4	35	38	20	2	1	–	–	–	–	–	212
22		–	–	24	33	15	4	1	1	2	5	14	21	214
30	Ⅴ	–	–	–	–	49	27	3	6	4	8	3	15	127
46		–	–	–	–	2	20	6	3	1	12	53	67(3)	214
50		–	–	–	–	–	–	5	4	6	20	65	91	115
70		–	–	–	–	–	–	–	–	9	19	72	100	90

( )……Grape Type

原虫을 時間的으로 檢査하여 보았더니 여기에서도 Mouse時와 마찬가지로 3時間에는 0型 Ⅰ～Ⅲ型만이 나왔으며 Ⅵ～Ⅹ型은 稀少하게 檢出되었다. 그러나 22時間에 가서는 0型을 除外하고는 Ⅹ型까지만이 나왔으며 70時間에 가서는 Ⅷ～Ⅹ型만이 檢出되였으며 여기에서 特異한 것은 葡萄狀型 即 6～7個가 集團的으로 있는 것도 나타났으며 22～30時間에서 보는 것은 若干에 楕圓型꼬리가 있는 듯한 形態이었으며 血球外에서도 많이 볼수 있으나 血球外에서는 不正散在하여 있었다. 257時間以後 殺處分 各臟器를 塗抹標本으로 檢査하여 보았으나 全혀 原虫을 볼수 없었다.

Guinea pig靜脈內에서의 原虫의 狀態 接種後 17時間에 接種한 5마리中 3마리에서 Ⅰ～Ⅱ型 2～7個를 觀察하였을 뿐 25～257時동間안 原虫을 觀察할 수가 없었다. 臨床的으로도 아무런 反應이 없었으며 殺處分後에 各臟器를 塗抹標本하여 檢査해도 原虫을 發見하지 못하였다.

表 5 기니픽 靜脈에 있어서의 原虫의 形態學的 變化

Table 5. Morphological Variation of the Piroplasma in the Circulating Blood of Guinea pig Intravenous inoculated

Hours after injection	guinea pig No.	Classification of Type (Differential Count%)											Total % of Type Ⅷ to Ⅹ	No. of Piroplasma
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	8	10		
Original blood		–	27	31	36	5	1	–	–	–	–	–	–	239
17	Ⅰ	–	29	71	–	–	–	–	–	–	–	–	–	7
25		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
17	Ⅱ	–	60	40	–	–	–	–	–	–	–	–	–	5
25		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
17	Ⅲ	–	100	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2
25		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
17	Ⅳ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
25		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
17	Ⅴ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
25		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
17	Ⅵ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
25		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0

Rat 腹腔內에서 原虫의 狀態

血球는 23時間以後부터 減少하여 54時間以後에는 急減하였다. 85時間以後에는 原虫을 發見하지 못하였으며 赤血球數도 적었다. Rat 역시 3時間만에 檢査한것은 0型에서 Ⅰ～Ⅴ型까지 나왔으며 23時間以後에는 全體의 型에서 出現하였으며 Ⅰ～Ⅲ型이 增加되었으며 나중에는 Ⅷ～Ⅹ型만이 나타났다. 赤血球外로 分散하여 나와 있는 것도 있으며 Ⅴ型에 있어서는 淋巴球에 寄生하고 있는 것도 1例 볼수 있었다. 그리고 時間이 經過할수록 Ⅹ型에 있어서는 圓型에서 楕圓型으로 變했으며 꼬리가 있는것같으며 尖端의 色은 淡色을 나타내고 있었다. 78～94時 間以後에는 血球에서 찾아 볼수가 없으며 그 原虫의 行方도 찾아볼 수는 없었다. 臨床的으로도 아무런 反應도 없었다.

Rat 腹腔內에서 原虫의 狀態

接種後 2～262時間 觀察하였으나 아무런 臨床症狀과 血液標本에서 虫體를 發見할 수가 없었으며 殺處分後 各臟器別 塗抹 標本의 檢査에서도 原虫을 發見하지 못하였다.

家兎腹腔內에서 原虫의 狀態

他實驗動物보다 더많은 血液을 注射하였어도 119時間以後에는 原虫을 發見하지 못하였으며 血球의 急減으로

表 6 Rat의 腹腔內에 있어서 原虫의 形態學的 變化

Table 6. Morphological Variation of the Piroplasma in the Abdominal Cavity of Rat Intraperitoneally Inoculated

Hours after injection	Rat No.	Classification of Type (Differential Count%) 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total % of Type Ⅷ To Ⅹ	No. of Piroplasma
Original blood		–	27	31	36	5	1	–	–	–	–	–	–	239
3		7	39	33	8	13	–	–	–	–	–	–	–	159
23		7	39	27	10	14	–	1	1	1	1	1	2	155
30		–	8	16	8	11	15	–	5	8	17	12	37	132
47	Ⅰ	–	–	–	17	12	13	13	4	9	12	20	41	129
54		–	–	–	10	–	8	19	7	8	17	31	56	89
71		–	–	–	–	11	–	15	7	15	20	32	67	72
78		–	–	–	–	–	–	17	11	17	20	35	72	46
3		7	30	38	–	11	14	–	–	–	–	–	–	108
23		6	18	34	16	14	9	–	–	2	–	1	3	94
30		–	3	18	19	–	23	–	4	8	9	16	33	90
47	Ⅱ	–	–	13	11	14	7	11	5	7	8	24	39	111
54		–	–	–	–	–	8	20	7	13	14	38	65	96
71		–	–	–	–	–	5	24	6	16	20	29	65	86
78		–	–	–	–	–	–	–	–	21	36	43	100	33
3		8	29	25	27	7	4	–	–	–	–	–	–	106
23		4	20	25	8	11	13	2	3	–	11	3	14	109
30		–	2	12	7	11	14	5	5	10	12	22	44	120
47	Ⅲ	–	–	–	7	13	16	11	6	11	14	22	47	112
54		–	–	–	–	–	4	12	7	29	24	24	77	58
3		13	26	34	15	12	–	–	–	–	–	–	–	93
23		2	11	19	13	27	13	–	5	2	3	5	10	130
30	Ⅳ	–	3	10	6	14	13	13	5	6	11	19	36	113
47		–	–	–	–	5	14	16	7	11	23	24	58	74
54		–	–	–	–	–	–	–	15	18	25	42	85	47

전 血球內에서도 原虫을 볼수가 없었다. 여기에서도 23時間以後에 各型別로 나왔으며 그리하여 時間이 經過됨에 따라 型도 달라졌으며 78時間以後에는 Ⅷ～Ⅹ型만이 觀察되었으며 血球外로도 많이 分散되어 있었다. 여기에서 3～47時間사이에 精虫型을 볼수 있었으며 47～54時間以後에는 보이지 않았다. 이것도 本原虫의 異型이라고 生覺된다. 殺處分하여 各臟器別로 觀察했으나 臨床的으로나 血液塗抹標本에서 原虫을 發見하지 못하였다

家兎靜脈內에서 原虫의 狀態

病牛의 纖維素를 除去한 血液 5ml을 家兎靜脈內에 注射하여 3～263時間 觀察하였으나 臨床的으로나 血液塗抹標本에서 原虫을 發見하지 못하였으며 殺處分後 各臟器에서도 發見할 수가 없었다.

닭腹腔內에서의 原虫의 狀態

他動物에 비해서 原虫은 빨리 消失되었으며 赤血球도 빨리 消失되었다. 그리고 原虫의 數도 他動物에 比해서 적은 數로 나타났었다. 여기에서도 24時間만에 各型이 全部 나타났으며 時間經過에 따라 그型을 推移하여 나갔으며 47時間에는 Ⅷ～Ⅹ型만이 나왔다. 殺處分하여 各臟器別로 檢查한 結果 原虫을 發見치 못하였다.

表 7 家兎腹腔內에 있어서 피로푸라스마의 形態學的 變化

Table 7-1. Morphological Variation of the Piroplasma in the Abdominally Inoculated Rabbit

Hours after injection	Rabb. No.	Classification of Type 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total % of Type Ⅶ to Ⅹ	No. of Piro-plasma
		Differential Count%												
Original blood		–	27	31	36	5	1	–	–	–	–	–	–	239
3		3	33	34	3	24	–	–	–	–	–	–	–(3)	395
23		3	–	26	34	2	–	23	1	1	–	7	8(3)	157
30		5	–	22	23	–	16	–	4	5	4	16	25(5)	134
47	Ⅰ	1	–	4	12	18	10	4	5	9	11	26	46(1)	136
54		–	–	1	5	16	10	3	7	10	13	35	58	135
71		–	–	–	–	–	7	6	4	13	23	47	83	69
78		–	–	–	–	–	–	–	5	17	27	51	95	41
95		–	–	–	–	–	–	–	10	17	23	50	90	30
102		–	–	–	–	–	–	–	–	22	22	56	100	9
3		1	28	43	10	15	–	–	–	–	1	1	2(1)	225
23		–	27	22	24	17	–	–	1	1	3	4	8(1)	193
30		–	–	14	21	17	20	8	1	3	5	10	18(1)	146
47	Ⅱ	–	–	4	13	1	19	19	4	4	5	16	25	164
54		–	–	–	–	–	10	27	5	8	14	36	58	115
71		–	–	–	–	–	–	–	–	9	33	58	100	43
78		–	–	–	–	–	–	–	–	7	40	53	100	30

Table 7-2 Morphological Changes of the Protozoa in the Circulating blood of the Abdominally inoculated Rabbit

3		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
23	Ⅰ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
30		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
47	&	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
54		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
71	Ⅱ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0

( )……Sperm Type

닭靜脈內에서 原虫의 狀態

保虫血液 5ml을 닭의 靜脈內에 注射後 3~263時間에 걸쳐 臨床및 血液所見을 觀察하였으나 原虫은 發見치 못하였고 臨床的으로 아무런 異常이 없었다.

孵化鷄卵內에서 原虫의 狀態

여기에서도 他實驗動物과 같이 3時間에 있어서는 0型 Ⅰ~Ⅴ型까지 나왔으며 2時間以後에 Ⅵ~Ⅶ型을 除外하고는 全體의 型이 다 나왔으며 原虫數는 他動物보다 적었고 原虫自體도 萎縮되여 있는 狀態이며 Ⅷ~Ⅹ型에서는 血球外에도 分散되여 있는것도 볼수 있었으며 69時間以後에는 原虫을 볼수 없었으며 血球만이 보였다. 그러므로 鷄胎兒에 對한 捺印標本을 해보았으나 原虫을 볼수가 없었다.

Ⅳ 考 察

우리나라에 流行하는 小型 Piroplasma原虫을 牛, Mouse, 家兎, Gunea-pig, Rat, 닭, 鷄卵等에 接種하여 그 病原性 및 原虫의 分裂과 形態를 觀察하였드니 各實驗動物마다 아무런 臨床症狀도 없었고 또 血液中에

表 8 닭의 腹腔內에 있어서 原虫의 形態學的 變化

Table 8. Morphological Variation of the Piroplasma in the Abdominal Cavity of Fowl

Hours after injection	Fowl No.	Classification of type (Differential count%) 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total % of type Ⅷ to Ⅹ	No. of Piroplasma
Original blood		–	27	31	36	5	1	–	–	–	–	–	–	239
3		3	12	22	24	12	25	–	–	2	–	–	2	98
23		–	2	15	6	20	17	–	9	2	14	15	3	87
30	Ⅰ	–	–	–	–	–	9	14	5	19	24	29	72	92
47		–	–	–	–	–	–	–	–	33	26	41	100	93
54		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
3		8	18	20	37	8	–	–	–	–	6	3	9	73
23	Ⅱ	2	4	11	10	13	5	3	9	12	14	17	43	128
30		–	–	–	–	–	11	13	10	16	20	30	66	112
47		–	–	–	–	–	–	–	6	21	29	44	94	72

Table 8-2 Morphological Changes of the Protozoa in the Circulating Blood of Fowl Intravenously Inoculated

3	Ⅰ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
23	&	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
30	Ⅱ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
47		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0

서도 接種初에 極少數의 原虫이 있을뿐 殺處分하여서도 어느 臟器의 變化도 없었다. 따라서 우리나라에 流行하는 小型 Piroplasma는 上記動物에는 非感染性이며 病原性도 없는 것으로 斷定하였다. 우리나라에 流行하는 小型 Piroplasma原虫의 罹患動物의 血液中赤血球에 寄生하는 原虫의 形態는 Ⅰ-Ⅹ型으로 分類하였다. 原虫의 蕃殖時期는 Ⅰ-Ⅲ型, Comma型, 柳葉狀및 桿狀의 原虫이 많으며 寄生數가 적어지는 時期에는 Ⅳ～Ⅵ型(楕圓型, 圓型, 落下傘狀型, 西洋梨型)等을 볼수 있다. 이런 時期를 지나서는 Ⅷ～Ⅹ型이 急激히 增加하나 牛體에 있어서는 그리 顯著하지 않았으며 原虫의 急激한 增加時期에는 나타나지 않았다. 0型 小圓型은 原虫感染初期라든가 진드기媒介時의 初期에 나타났으며 그後 Ⅰ～Ⅲ型이 顯著하게 많이 나타났을 때는 없었다. 또 Babesia 科에서 보이는 双梨子狀의 二分裂增殖法이라 生覺되는 增殖像도 確認되지 않았다. 그리고 Theileria parva에서 認定되는 Schizagony도 發見치 못하였다. 著者들은 感染試驗에 供試를 牛體의 各臟器組織內에서도 侵入發育하는 像은 볼수가 없었다. 病牛의 纖維素를 除去한 血液을 牛, Mouse, Rabbit, Guinea pig, Fowl, Rat, Egg等의 腹腔內에 注射하여 時間의 經過에 따라 赤血球內에 原虫을 觀察하였던바 牛의 血液中에서 形態變化보다 더 顯著하게 短時間內에 나타났다. 即 Ⅰ～Ⅲ型의 減少에 따라 相對的으로 Ⅳ～Ⅵ型및 Ⅷ～Ⅹ型이 增加하며 끝으로 나타나는 것은 거의 全部가 Ⅷ～Ⅹ型이였다 固有宿主에서나 非固有宿主에서나 비슷하게 나타났다. 이들 各各의 動物을 보면 大部分 30時間이 고비이며 30時間以後에는 Ⅷ～Ⅹ型이 大部分이다. 그리고 赤血球外에 分散된 原虫도 많았으며 Ⅴ～Ⅵ型은 赤血球外에 있는 것이 가끔 있었으며 淋巴球에 寄生되여 있는 것도 있었다. 그리고 牛體에서 보지 못하였던 6～7個가 集團되어 있는 型은 Guinea-pig에서 小數 觀察되었으며 赤血球外로 放出되어 있는 것도 있었다. 그리고 또 精虫型도 있었으나 이것은 家兎에서 볼수 있었으며 感染初期에 나타났었다. Guinea-pig에서도 葡萄狀型(6～7個)이 集團的으로 나왔다. 이型은 石原가 觀察한 以外의 型이었으며 나머지 11個型은 石原[7]가 觀察한 型과 同一하였다.

著者가 觀察한 것은 原虫 1個에 對해서 그 形態的인 變化를 본것은 아니나 相對的으로 Ⅰ-Ⅲ型은 漸次

表 9 孵化鷄卵의 脈絡尿膜및 羊水內에서 原虫의 形態學的 變化

Table 9. Morphological Variations of the Piroplasma in the Chorioallantoic membrane and amnion of chicken embryo

Hours after injection	Egg No.	Classification of type (Defferential count %) 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total % of type Ⅷ to Ⅹ	No. of Piroplasma
Original blood		—	27	31	36	5	1	—	—	—	—	—	—	239
3		12	23	13	12	25	15	—	—	—	—	—	—	92
21		6	11	14	15	14	34	—	—	2	4	—	6	95
28	Ⅰ	—	—	—	—	—	30	35	2	4	11	18	33	71
45		—	—	—	—	—	—	17	9	17	25	32	74	69
52		—	—	—	—	—	—	—	17	23	23	37	83	30
3		7	22	30	16	25	—	—	—	—	—	—	—	324
21		—	10	18	28	23	—	—	4	4	6	7	17	115
28	Ⅱ	—	—	—	—	—	17	16	16	9	14	28	51	76
45		—	—	—	—	—	—	24	4	16	30	26	72	55
52		—	—	—	—	—	—	—	15	6	37	42	85	33
3		—	18	37	33	12	—	—	—	—	—	—	—	182
21		—	5	8	23	39	—	—	5	6	6	8	20	140
28	Ⅲ	—	—	—	—	6	8	13	11	14	20	28	62	64
45		—	—	—	—	—	3	15	7	11	25	39	75	64
52		—	—	—	—	—	—	9	5	17	31	38	86	42
* chicken Embryo														
45	Ⅰ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
46	%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
47	Ⅱ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
48		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0

Ⅳ～Ⅵ型 Ⅷ～Ⅹ型으로 移行해서 Ⅹ型으로 되는 것은 Ⅰ型에서 Ⅹ型으로 變해 가는 것이 아닌가 生覺된다.

實驗動物에 있어서 Ⅹ型이 다시 Ⅰ型으로 되돌아 오지 않았다는 것과 氷室內 保有의 原虫은 若干 Ⅷ～Ⅹ型이 增加하나 一般的으로 萎縮해서 多染性이 되며 이 保有原虫을 Mouse에 接種하면 再次 原形質이 豐富하게 되며 漸次 變形되여 갔다. 이와 同時에 固有宿主인 牛에 接種했을 때에도 이와같은 變化가 있었으며 原虫保有血液의 接種으로 感染되는 것 等으로 보아 이 變化는 退行性變化보다 오히려 增殖性變化로 生覺되며 우리나라 小型 Piroplasma發育環의 一部라 볼수 있다.

牛體內및 各實驗動物에서 Ⅹ型의 分散및 行方에 對해서 追求해 보았으나 各臟器內에서 認定을 못하였고 또 細胞內增殖像도 觀察할 수가 없었다. 그리고 各種 臟器의 捺印 塗抹標本에서도 本原虫의 Schizogony도 原虫도 觀察치 못하였다.

이 小型 Piroplasma의 赤血球內에 있어서의 變化는 Nuttal StricKland[6]가 報告한 Nuttalliaequi의 發育環과 類似하다. 그리고 또 日本에서 1958年 石原[7]가 試驗한 日本發生 小型 Piroplasma發育環과 같다고 認定할 수 있다. 病牛의 頸靜脈血液中에 있어서 增殖時間에 Ⅷ～Ⅹ型의 原虫은 數% 내지는 그 以下로서 幼若한 原虫이라 生覺되는 Ⅰ型의 原虫이 急激히 增加하였으며 그後에 Ⅷ～Ⅹ型은 많어져 漸次로 赤血球內에서 原虫數는 衰退해지나 이것은 *Babesia bigemina*感染의 發症期에 双梨子狀의 原虫의 急增과는 槪念이 다르다는 것으로 안다. 이 小型 Piroplasma에 있어서는 發症時期에는 Ⅰ～Ⅲ型이 가장 많이 나왔다. 여기에서 보는 非宿主性 實驗動物에서 Ⅹ型은 最終으로 衰退해 갔으며 本原虫의 牛體內 增殖은 우리가 보는 發育環과는 別個

의 發育環으로서 增殖하여 나가며 流血以外의 場所에서 增殖하여 나간다고 生覺되었다. 이것은 牛의 血液塗抹標本에서도 觀察하였다 毒血人工感染時에 觀察한바 X型의 分散된 原虫이 他組織 또는 直接赤血球內에 侵入하는 것인지 또는 他細胞에 寄生해서 侵入하는 것인지는 確認치 못하였다. 그러나 人工感染時 原虫出現 以前에 顯著한 發熱所見은 血液以外의 場所에서 原虫이 發育된다고 推測된다. 本原虫의 種類에 對해서는 若干의 疑問點도 있으나 Theiler는 1906年에 同定한 Gonderia mutans라고 形態學的으로는 生覺되나 Theileria科의 特色은 Schizogony像이 보이지 않았고 Reichenow가 定義한 Babesia科는 哺乳動物의 赤血球內에서 增殖하며 진드기의 體內에서 世代通過가 可能하다고 한다 Teileria科는 淋巴球內에서 增殖하여 진드기內 通過가 可能하다 하였는데 本原虫은 赤血球內에서 增殖하여 가며 毒血接種으로서 感染可能等 진드기에서 卵通過가 되지 않으며 本原虫이 Hb種에 依해서 媒介되는 것으로 보아 本原虫은 Theileria babesia의 中間인 Gonderia科에 屬해야 하나 病原性問題에 있어서 우리나라에 分布하고있는 小型 Piroplasma는 相當히 强[9][15]한 것으로서 日本의 石原가 말한 所謂 小型 Piroplasma와 近似하다고 보며 非宿主動物인 Mouse, Guinea-pig, Rat, 닭, 家兎및 孵化鷄卵에서 一過性인 培養밖에 않되며 牛以外의 動物에는 感染이 안되는 것으로 안다.

V 結 論

Piroplasma非感染宿主인 實驗動物 Mouse, Guinea-pig, Rat, 家兎, 닭, 孵化鷄卵等의 靜脈 또는 腹腔內에 注射하여 우리나라原虫의 形態學的變化 및 그增殖如否를 檢討하였다.

1. 우리나라에 流行하는 Piroplasma는 Mouse, Guinea-pig, 家兎, Rat, 닭및 孵化鷄卵等의 實驗動物에는 病原性이 없으며 따라서 腹腔內에서 本原虫의 一部發育環을 볼 수 있었고 現在까지도 Schizogony는 他臟器에서도 發見치 못하였다.

2. 牛, Mouse, Guinea-pig, Rat, 家兎, 닭및 孵化鷄卵等은 時間이 經過됨에 따라 相對的으로 Ⅳ～Ⅵ型, Ⅵ～Ⅹ型으로 增加하여 갔으며 Ⅹ型에서는 다시 Ⅰ型으로 增殖되지 않았다. Guinea-pig에 있어서는 Ⅹ型보다 2-3個가 많은 葡萄狀型이 나왔으며 時間이 지남에 따라 圓型은 楕圓型으로 되었으며 色도 尖端部는 淡色을 보이었다.

3. 靜脈內 注射한 實驗動物 Mouse의 極少數가 初期에 나왔고 他動物에서 流血中에서는 檢出치 못하였으며 아무런 臨床症狀도 나타나지 않았다. 그리고 殺處分後 各臟器에서도 原虫을 볼수 없었다.

4. 非宿主實驗動物에서도 原虫의 形態推移는 더욱 明確히 바뀌어져 갔으며 30時間 以後에는 大部分 Ⅵ～Ⅹ型으로 되었으며 Ⅵ～Ⅹ型은 赤血球外에 離散한 原虫을 많이 볼수 있었다. 그러나 그後의 原虫의 行方은 追求치 못하였다.

5. 이小型 Piroplasma는 Ⅰ～Ⅹ型으로 되며 Ⅵ～Ⅹ型에서는 分散해서 細胞에 寄生하는 것으로 推測된다. 이 發育環및 形態는 日本에서 流行하는 小型 Piroplasma와 近似하였다.

VI 參 考 文 獻

1. Ishii, S., and Ishi hara, T. : On the Piroplasmosis by Gonderia mutans in Japan. J. Jap. Vet. Med. Ass., 1 : 1, 1948.
2. Ishii, S., and Ishihara, T. : Treatment of Piroplasmosis(G. mutans) with Tropophin Juikai, Japan., 21 : 1, 1949.
3. Ishihara, T., and Ishii, S. : Studies on Piroplasmosis by Theileria mutans in Japan. 1. Clinical changes in the Initial stage of the Infection, Abstracts from Procedings of Suiyokai, Nat. Inst. Anim. Health, 29 · 1956.
4. Ishitani, R., Sasaki, N., and Nakada, K. : Studyon the Piroplasmois by Theileria mutans in Hokkaido. Hokuno, 16 : 293, 1948.
5. Ishii, S., and Ishihara, T. : Studies on Ticks Carrying Minor Piroplasma. J. Jap. Vet. Med. Ass., 4 : 289, 1951.
6. Nuttall, G.H.F., and Strickl and, C. : On the Occurrence of Two Species of Parasites in Equine Piroplasmosis orBiliary Fever. Parasitol., 5 : 65, 1912.
7. Ishihara, T., and Susumu Ishi. : Studies on Piroplasmosis by Theileria mutans in Erythrocytes of Cattle. Bull. 34. of Nat. Inst. of Anim. Health, 1958.
8 Wenyon, C.M. : Protozoology. II. Bailliere Tindall and Cox Ltd., London, 1926.
9. 孫濟英 : 慶北地方을 中心으로한 畜牛의 Piroplasma病에 關한 硏究. Piroplasma原虫保有牛의 分布調査및 原虫의 形態에 關하여. 慶北大 論文集. 8 : 1964.
10. 時重初態, 態本具下ニ於ケル 畜牛地方病調査報告. 時重獸醫學博士論文集. 346-406, 1918.

11. 田中正一：畜牛(Piroplasma) の調査. 獸疫調査報告. 5：51～109, 1912.
12. 井野場條次郎：朝鮮牛の バベシヤ. 中央獸醫學雜誌 36(6)：495～509.
13. 鄭柱詳：우리나라牛의 Piroplasma感染에 對한 調査. 1925. 第1回 大韓獸醫學會 學術發表會.
14. 農村振興廳家畜衛生研究所：1957年 家畜衛生研究所報. 農事試驗研究結果要覽. 1962.
15. 韓台愚·金三基：1964年 家畜衛生研究所事業報告書

Studies on Piroplasmosis

Infection and Morphological Development of

Piroplasma in Experimental Animals

T.W. Han, D. V. M

Vet. Res. Lab., Anyang, Korea.

ABSTRACT

The small type piroplasma which is known to be prevailing in Korean cattle was injected to un-susceptible hosts such as mice, guinea pigs, rats, rabbits, fowls and developing chicken eggs by i.v., i.p. and intra C.A. M. routes, and its morphological development in each animal species was observed.

1. The small type piroplasma of cattle did not produce any pathogenicity in the experimental animals such as mice, guinea pigs, rats, rabbits, fowls and developing chiken embryos. However, only a partial sign for developing cycle of the organism was observed in the peritoneal fluid. The schizogony of protozoa was not detected in any organs of the inoculated animals.

2. In the animals inoculated, the parasites of I-III types, relative to the process of time in the host, have changed their shapes into Ⅳ-Ⅵ types and then Ⅵ-Ⅹ types however, the type Ⅹ was not restored to the type Ⅰ. In guinea pigs, more grape type was detected then Ⅹ type in number, and in process of time, the shape was changed from round to elliptic, and the pointed end of the organism appeared in flesh color.

3. None of the organisms were found from the blood stream of inoculated animals excepts only a few piroplasma as were found in the experimental mice shortly after inoculation or i.v. route, No protozoa was also found in the organs of the animals autopsied.

4. The form change of protozoa was more clear in these animals than that in susceptible host. The most piroplasmas have changed their forms into Ⅵ-Ⅹ types 30 hours after inoculation and were dispersed from R.B.C. Tracing of piroplasma beyond this stage was not attempted.

5. The small type piroplasma comprises in Ⅰ. Ⅹ types and it is further believed that Ⅵ-Ⅹ types which were freed from one cell proceeded to invade others. The from of developmment resembles to the small type of piroplasma which is prevailing in Japan.