

## 국내 마우스에서 분리된 *Cryptosporidium parvum*의 송아지로의 감염시험

농촌진흥청 가축위생연구소 및 전남대학교 수의과대학\*

위성환 · 이정길\* · 주후돈 · 강영배

**요약** : 국내 마우스에서 분리하여 계대중인 *Cryptosporidium parvum* 원충이 송아지에 감염되는지 알아보기 위하여 25일령의 한우 송아지에  $1 \times 10^6$ 개의 오오시스트를 감염시킨 결과 접종 후 4일째부터 분변 내에 오오시스트를 배출하였다. 오오시스트의 배설은 8일간 지속되었고, 그 수는 원충 접종 후 6일째에 가장 많았다(분변 gram당  $4.9 \times 10^2$ 개 오오시스트). 감염된 송아지의 분변 내로 오오시스트가 배출되는 동안 분변의 성상은 정상이었다. 이상의 결과로 볼 때 국내 마우스에서 분리된 *C. parvum*은 송아지에게도 교차감염이 이루어져 숙주특이성이 없음을 알 수 있었다.

**Key words**: *Cryptosporidium parvum*, experimental infection, Korean native calf, mouse, cross-transmission

### 서론

면역이 결핍된 사람에서 분리율이 높고 경우에 따라서는 생명을 위협하는 병인체로 작용하기도 해서 인의에서 매우 중요하게 취급되고 있는 (Campbell and Current, 1983) *Cryptosporidium*속의 원충은 포유동물 (Panciera et al., 1971; Ongerth and Stibbs, 1989; 이 등, 1991a), 조류(모 등, 1988; 이 등, 1991c), 파충류(Godshalk et al., 1986), 그리고 어류(Boufassa et al., 1986)에 이르기까지 감염이 이루어지기 때문에 숙주 특이성이 없는 것으로 간주되고 있다. 포유동물에서 병을 일으키는 것으로는 *Cryptosporidium parvum*과 *C. muris*가 있는데, *C. parvum*이 어린아이의 설사와 관련되는 질병의 원인체로 알려져 있다 (Upton and Current, 1985; Moon and Woodmanscc, 1986). 또한 인체 감염은 *Cryptosporidium*에 감염된 송아지로부터 직접적인 감염이나 오염된 사료 또는 물을 통한 간접적인 경로로 감염이 이루어지기 때문에 감염된 송아지는 전파원으로서 중요하다(Moon and Woodmanscc, 1986).

국내에서는 모 등(1988)에 의하여 닭의 cryptosporidiosis가 최초로 보고된 이래 여러 학자들이 각종의 동물을 대상으로 이 원충의 감염실태를 조사한 바 *C. parvum*(채 등, 1990), *C. muris*(이 등, 1991b), *C. baileyi*(이 등, 1991c)등이 동정되었고, *Cryptosporidium*을 실험실에서 진단하기 위한 염색법 비교시험(노 등, 1991; 위 등, 1992)도 활발하게 진행되고 있다. 그러나 이러한 연구들은 주로 실험동물을 사용하

였기 때문에 가축에서 경제적으로 중요하고 원충의 전파원으로서도 중요하게 취급되는 송아지에서의 연구는 미흡한 실정이다. 본 연구는 국내 마우스에서 분리되어 계대중인 *C. parvum*이 송아지에도 감염되는지를 알아보기 위하여 실시되었다.

### 재료 및 방법

#### 1. 시험에 사용한 원충

국내에서 사육되고 있는 BALB/c 마우스에서 분리(위 등, 1992)하여 가축위생연구소 SPF 실험 동물사에서 생산되는 ICR계 마우스(3주령)에 계대중인 *Cryptosporidium parvum* 원충주 (VRI-CN91 strain)를 사용하였다.

#### 2. 송아지 감염

실험에 사용된 송아지는 25일령의 한우 송아지 2두였다. 한우 송아지 1두 (92K1)는 상기한 VRI-CN91 strain ( $1 \times 10^6$ 개의 오오시스트)으로 경구감염시켰으며, 송아지 1두 (92K2)는 감염시키지 않고 대조로 사용하였다.

#### 3. 분변검사

실험에 사용된 송아지는 감염시키기 전에 Sheather's sugar centrifugal 부유법과 DMSO-modified acid fast 염색법(Bronsdon, 1984; 위 등, 1992)으로 이 원충의 감염유무를 확인하였다.

송아지의 분변은 *C. parvum*을 감염시킨 날부터 매일 분변을 채취하여 그 성상을 육안적으로 관찰하여 기록한 후 원충의 존재를 검사하였다. 수거된 분변은 동량의 2.5% potassium dichromate 용액에 잘 혼합하

여 냉장고 (4°C)에 보관하면서 그중 일부를 단계적으로 250 mesh (61 μm porosity)까지 거른 다음 Sheather's sugar centrifugal 부유법과 DMSO-modified acid fast 염색법으로 분변내 오오시스트를 확인하였다. 오오시스트가 확인된 분변은 혈구계산관을 사용하여 OPG(분변 1g당 함유된 오오시스트의 수)를 계산하였다. 또한 검출된 오오시스트는 워싱턴 주립대학교에서 분양받은 monoclonal antibody와 *Cryptosporidium* 진단용 kit (Meridian Diagnostics, Inc., Ohio)를 이용하여 indirect fluorescence antibody(IFA) test를 실시하여 형광현미경 (Karl Zeiss, Germany)으로 반응을 관찰하였다.

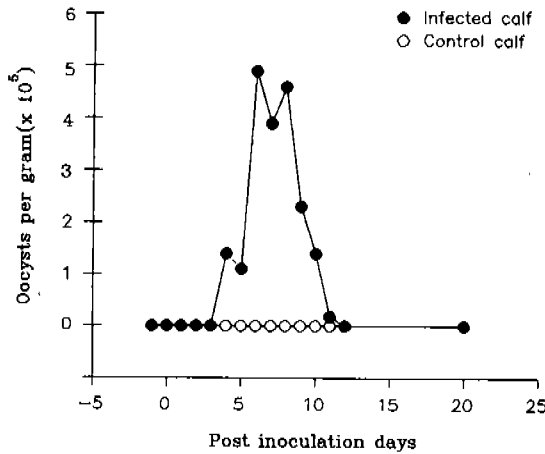


Fig. 1. Patterns of oocyst discharge in a Korean native calf experimentally infected with  $10^6$  *C. parvum* oocysts originated from a mouse.

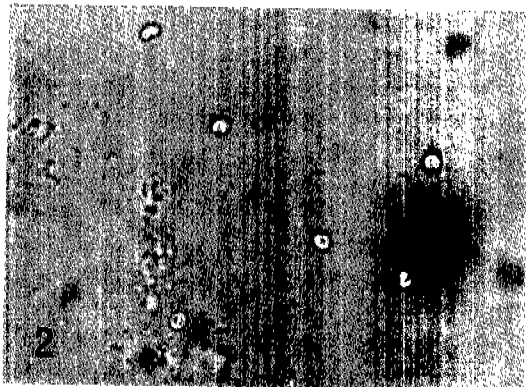


Fig. 2. Oocysts recovered from feces of a Korean native calf by the Sheather's sugar centrifugal floatation method ( $\times 400$ ).

## 결 과

### 1. 송아지 분변내 오오시스트의 배출

우리나라 마우스에서 분리한 *C. parvum*으로 감염시킨 한우 송아지(92K1)가 분변 내로 배출하는 오오시스트의 경시적인 변화를 Fig. 1에 나타냈다. 오오시스트는 감염 후 4일째부터 검출되기 시작하여 8일간 지속되었는데 감염 후 6일째에 가장 많은 오오시스트가 배출되었다(oocysts per gram of feces:  $4.9 \times 10^5$ ). 분변의 정상은 감염 후 7~9일 사이에 약간 연변을 볼 수 있었으며 그 밖에는 정상이었다. 대조로 사용한 송아지(92K2)에서는 실험기간 동안 전혀 오오시스트가 검출되지 않았으며 분변의 정상도 거의 정상이었다.

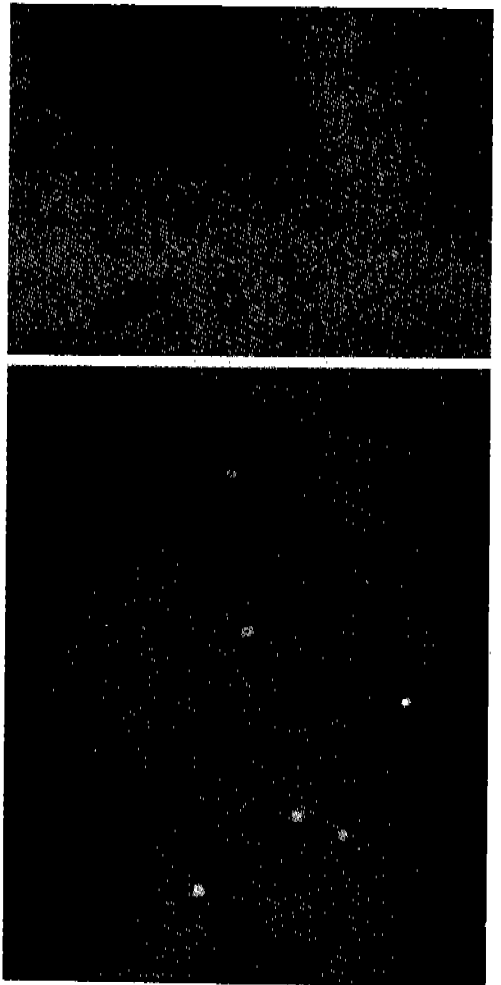


Fig. 3. Oocyst recovered from feces of a Korean native calf by the DMSO-modified acid fast staining technique ( $\times 1,000$ ).

Fig. 4. Immunofluorescence staining of oocysts from fecal samples of a Korean native calf using monoclonal antibody ( $\times 250$ ).

2. 송아지 분변에서 검출된 오오시스트의 형태

부유법에서 관찰된 오오시스트는 4~6 μm의 크기로 구형 또는 약간의 타원 형태를 나타냈다. 오오시스트 내부에 존재하는 sporozoite는 확인하기 어려웠으나 residual body로 생각되는 점상의 과립이 관찰되었다 (Fig. 2). 한편, DMSO-modified acid fast 염색법에서는 세균이나 다른 잔물들이 청녹색 또는 녹색으로 염색되는 반면 원충의 오오시스트는 붉은색으로 염색되어 쉽게 구별되었다. 오오시스트의 내부에 작은 검정색의 과립이나 공포로 생각되는 물질을 함유하고 있는 경우가 많았으며, 형태는 거의 구형으로 내부에 sporozoite를 함유하고 있는 것도 관찰되었다(Fig. 3).

송아지의 분변으로 배출된 오오시스트를 IFA test로 확인한 바 둥근 원형의 형태로 관찰되었는데 원충의 막부분에 특이형광을 나타내고 있었다(Fig. 4).

고 찰

본 실험은 국내 마우스로부터 분리되어 실험실에서 계대해 오고 있는 *C. parvum* 원충주를 송아지에 실험적으로 감염시켰을 때 교차감염이 이루어지는지를 알아보기 위하여 실시하였다. 본 실험에서는 국내 마우스에서 분리된 *C. parvum*을 25일령의 송아지에 1×10<sup>6</sup> 개 경구 감염시킨 후 4일 제부터 송아지 분변에서 원충의 오오시스트가 검출되었다. 이 결과는 마우스에서 분리된 *C. parvum*이 송아지에 감염되어 사람이나 동물에서 분리된 *Cryptosporidium*이 다른 동물이나 실험 동물로 감염이 성립되는 것과 같이 이 원충이 숙주 특이성을 갖지 않는다는 결과를 뒷받침한다 (Boufassa et al., 1986; Moon and Woodmansee, 1986; Miyaji et al., 1990).

송아지에서 오오시스트의 배출은 감염 후 4일제부터 8일간 지속되었는데, 감염 6일제에 가장 많은 오오시스트가 검출되었다(OPG: 4.9×10<sup>6</sup>). 이러한 결과는 1일령의 송아지에 *C. parvum*을 접종한 후 6일 또는 7일제에 가장 많은 오오시스트를 검출할 수 있었다는 Anusz et al.(1990)과 Peeter et al.(1992)의 결과와 일치하였다.

Pancieria et al.(1971)이 송아지 설사와 관련된 cryptosporidiosis를 최초로 보고한 이후 계속적인 연구로 *Cryptosporidium*이 신생 송아지에서 발생하는 설사후후군의 중요한 원인체로 취급되고 있다(Morin et al., 1976; Pohlenz et al., 1978; Anderson, 1981; Anderson and Hall, 1982; Anusz et al., 1990; Peeters et al., 1992). 그러나 본 실험에서는 감염된 송아지가 설사를 나타내지 않았다. *C. parvum*이 신생 송아지의 설사에 중요한 원인체로 인정되고 있지만 감염된 송아지라도 개체에 따라 분변으로 배출되는 오오시스트의 숫자에 차이가 있고 설사를 나타내지 않았다는 보고 (Anusz et al., 1990)나 일령이 어린 송아지일수록 *C.*

*parvum*에 대한 감수성이 높아서 설사를 임상증상으로 나타내는 경우가 많았다는 보고(Pohlenz et al., 1978; Anderson, 1981; Ongerth and Stibbs, 1989), 그리고 감염시킨 원충의 수가 많았을 때 설사를 나타냈다는 보고 (Riggs and Perryman, 1987; Anusz et al., 1990) 등을 감안하던 본 실험에 사용된 송아지는 일령이 높은데다가 감염된 원충의 수가 적어서 설사증상을 보이지 않은 것으로 판단된다. 따라서 이런 결과는 송아지에 *C. parvum*이 감염이 이루어질 때의 일령과 감염되는 원충의 숫자에 의해서 임상적으로 설사증상이 발현되는 것으로 생각된다.

국내 마우스에서 분리된 *C. parvum*이 송아지로 교차감염이 이루어짐에 따라 숙주특이성이 없음이 확인된 바, 국내 송아지에서서의 감염은 송아지들 사이에서 감염이 이루어지는 것 이외에 야외에서 기생하는 설치류나 기타 포유동물로부터 교차감염이 이루어지는 것으로 볼 수 있다. 따라서 국내에서 분리된 *Cryptosporidium*들을 여러 가지 방법을 이용하여 동일종인지를 규명해야 할 필요성이 크다 하겠다.

참 고 문 헌

노재욱·강두원·장두환·강영배 (1991) 크립토스포리디움의 실험실적 진단법. 대한수의학회지, 31(4): 501-507.  
 모인필·윤희정·최상호·이영옥·남궁선 (1988) 닭의 cryptosporidiosis 발생에 보고. 대한수의학회지 28 (1):175-177.  
 위성환·강영배·주후돈·김행옥·황의경·최상호·이정길 (1992) 국내 마우스로부터 분리된 *Cryptosporidium*의 실험용 마우스로의 감염실험. 농사시현연구논문집(가축위생편), 34(1):43-48.  
 이재구·서영석·박배근 (1991a) 한국산 동물로부터 크립토스포리디움의 분리 및 동정. I. 각종동물의 크립토스포리디움 감염 상황. 기생충학잡지, 29(2): 139-148.  
 이재구·서영석·박배근 (1991b) 한국산 동물로부터 크립토스포리디움의 분리 및 동정. II. 마우스로부터 *Cryptosporidium muris*의 분리. 기생충학잡지, 29(2):149-159.  
 이재구·서영석·박배근 (1991c) 한국산 동물로부터 크립토스포리디움의 분리 및 동정. III. 닭으로부터 *Cryptosporidium baileyi*의 분리. 기생충학잡지, 29 (4):315-324.  
 채종일·신손문·윤종구·유재란·이순형 (1990) 면역억제에 의한 마우스의 *Cryptosporidium* 발현실험. 기생충학잡지, 28(1):31-37.  
 Anderson, B.C.(1981) Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves, *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 178(9):982-984.

- Anderson, B.C. and Hall, R.F. (1982) Cryptosporidial infection in Idaho dairy calves. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, **181**(5):484-485.
- Anusz, K.Z., Mason, P.H., Riggs, M.W. and Perryman, L.E. (1990) Detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in bovine feces by monoclonal antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.*, **28**(12):2770-2774.
- Boufassa, S., Chermette, R. and Meissonnier, E. (1986) Cryptosporidiosis: A cosmopolitan disease in animals and man. O.I.E. Technical series No. 5.
- Bronsdon, M.A. (1984) Rapid dimethyl sulfoxide (DMSO)-modified acid-fast stain of *Cryptosporidium* oocysts in stool specimens. *J. Clin. Microbiol.*, **19**(6):952-953.
- Campbell, P.N. and Current, W.L. (1983) Demonstration of serum antibodies to *Cryptosporidium* sp. in normal and immunodeficient humans with confirmed infections. *J. Clin. Microbiol.*, **18**(1):165-169.
- Godshalk, C.P., MacCoy, D.M., Patterson, J.S. and Mckiernan, B.C. (1986) Gastric hypertrophy associated with cryptosporidiosis in a snake. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, **189**(9):1126-1128.
- Meuten, D.J., Kruiningen, H.J.V. and Lein, D.H. (1974) Cryptosporidiosis in a calf. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, **165**(10):914-917.
- Miyaji, S., Sakanashi, Y., Asami, M. and Shikata, J. (1990) Cryptosporidial infections in calves in Kanto district, Japan, and experimental infections in mice. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **52**(2):435-437.
- Moon, H.W. and Woodmansee, D.B. (1986) Cryptosporidiosis. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, **189**(6):643-646.
- Morin, M., Lariviere, S. and Lallier, R. (1976) Pathologic and microbiological observations made on spontaneous cases of acute neonatal calf diarrhea. *Can. J. Comp. Med.*, **40**:228-240.
- Ongerth, J.E. and Stibbs, H.H. (1988) Prevalence of *Cryptosporidium* infection in dairy calves in western Washington. *Am. J. Vet. Res.*, **50**(7):1069-1070.
- Pancieria, R.J., Thomassen, R.W. and Garner, F.M. (1971) Cryptosporidial infection in a calf. *Vet. Path.*, **8**:479-484.
- Peeter, J.E., Villacorta, I., Vanopdenbosch, E., Vandergheynst, D., Naciri, M., Ares-Mazas, E. and Yvore, P. (1990) *Cryptosporidium parvum* in calves: Kinetics and immunoblot analysis of specific serum and local antibody response (Immunoglobulin A [IgA], IgG and IgM) after natural and experimental infections. *Infect. Immun.*, **60**(6):2309-2316.
- Phohlenz, J., Moon, H.H., Cheville, N.F. and Bemrick, W.J. (1978) Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, **172**(4):452-457.
- Riggs, M.W. and Perryman, L.E. (1987) Infectivity and neutralization of *Cryptosporidium parvum* sporozoites. *Infect. Immun.*, **55**(9):2081-2087.
- Upton, S.J. and Current, W.L. (1985) The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporiidae) infecting mammals. *J. Parasitol.*, **71**(5):625-629.

=Abstract=

**Experimental *Cryptosporidium parvum* infection in a Korean native calf isolated from a Korean mouse**

Sung-Hwan Wee, Chung-Gil Lee\*, Hoo-Don Joo and Yung-Bai Kang  
*Veterinary Research Institute, RDA, Anyang 430-016, and College of Veterinary Medicine\*, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea*

This study was performed to investigate experimental transmission of *Cryptosporidium parvum* in a calf. A 25-day-old Korean native calf was inoculated per os with  $1 \times 10^5$  *C. parvum* oocysts isolated from a Korean mouse. The calf commenced oocyst discharge in feces on post-inoculation day 4, and continued until the day 11. The number of discharged oocysts peaked ( $4.9 \times 10^5$ ) on post-inoculation day 6. However, the calf did not show signs of diarrhea. The present results indicate that *C. parvum* is cross-transmissible between the calf and the mouse.