

재래산양의 *Anaplasma* spp 감염에 대한 혈액학적 및 혈청학적 조사

박경옥 · 이정아 · 오강희 · 박영구

경상북도 가축위생시험소 서부지소

Hematological and Serological Survey to *Anaplasma* spp in Goat

Kyung-Ok Park, Jung-Ah Lee, Kang-Hee Oh, Young-Goo Park

Western Branch of Kyungbuk Veterinary Service Laboratory

Abstract

To investigate infection rates of *Anaplasma* spp in Red Blood Cell(RBC) of 209 goats and to detect the *Anaplasma* antibody in sera of 242 goats by Complement Fixation test (CF test), the present study was practiced.

The obtained results were as follows :

1. Infection rates of *Anaplasma* spp in RBC of blood smears, stained by the Giemsa method, were seasonally 15.3% in spring, 20.0% in summer, 39.3% in fall, 16.9% in winter, respectively.

2. The positive rates of the *Anaplasma* antibody in sera of goats tested by CF test were seasonally 80.2% in spring, 79.0% in summer, 85.7% in fall, 62.0% in winter, respectively.

Key words : *Anaplasma* spp, *Anaplasma* antibody, Complement Fixation test.

서 론

Anaplasmosis는 소와 반추동물에 있어서

유산, 체중감소, 유량감소, 빈혈, 폐사 등의 심각한 피해를 주는 급, 만성 질병으로^{2,4,18)} 미국, 캐나다, 호주 등 세계적으로 문제시 되

고 있으며^{6, 9, 18)}, USDA의 보고에 의하면 미국에서 Bovine anaplasmosis에 의한 피해가 1984년도에 연간 5억달러에 이른다고 한다⁹⁾.

국내에서는 1992년 9월부터 11월 사이에 빈혈성 폐사를 주증으로 하는 전염병이 전북 장수, 진안 일대 사육 재래산양과 수입산양 목장에서 발생하여 조사한 결과 아나플라즈마에 의한 것으로 밝혀진 이후 소와 재래산양에서 본 질병에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다¹⁸⁻²⁰⁾.

Anaplasma는 Rickettiales목, Rickettsiaceae속이며 주혈 리켓차병 원인체의 하나로서 매개는 주로 진드기(ticks)에 의한다^{4, 9, 17, 26)}.

Anaplasma는 작은 구형체로서 소, 사슴, 양 및 산양의 적혈구내에 기생하며, 적혈구 1개에 기생수는 보통 1개 내지 2-3개이고 지름이 0.3-1.0 μ m가 되며 Giemsa염색한 혈액도말 표본상에서 적자색으로 보인다^{1, 2, 21, 25)}.

소의 Anaplasmosis에는 병원성이 약한 *A. centrale*종과 병원성이 강한 *A. marginale*종이 알려져 있고, 기생부위, 병원성 및 항원성에 의해 양자가 구별되며 산양, 면양에서는 *A. ovis*가 알려져 있다^{1, 21, 25)}. 축종과 연령에 따라 각 원인에 대하여 감수성이 차이가 있으나, 나이에 관계없이 이환되며 병성은 나이가 많을수록 강해져 이병율과 폐사율이 증가하고, 주된 임상증상은 발열, 빈혈, 황달, 식욕부진, 변비, 쇠약, 탈수, 유산 등이 있으며, 감염후는 일생동안 carrier로 남게되며 재감염에 강하게 저항하고, 치료 또는 다른 원인에 의하여 Anaplasma가 체내에서 소실될 경우 감수성이 부활된다^{2, 7, 8, 11, 14, 25)}.

본 질병은 tetracycline계에 의해 치료가 되며, 예방접종에 의한 humoral antibody는 Anaplasma 감염을 방어하는데 효과가 있다는 보고가 있으며^{2, 3)}, 혈청내 항체는 보체결합반응(complement-fixation test, CF test)과 모세관내응집반응(Capillary Tube Agglutination test, CA test)에 의하여 증명될 수 있다^{4, 10, 16, 18)}.

본 질병의 진단에 있어서 어린산양은 거의 임상증상없이 내과하여 혈액도말표본에 의한 원체 검사시기를 결정하기 어렵고, 일정기간 후에는 적혈구내 병원체가 소실되어 정확한 형태학적 진단이 곤란하다^{5, 22, 23)} 따라서 감염 내과 산양의 진단을 위하여 외국에서는 보체결합반응, 모세관내응집반응, 급속평판응집반응, 간접형광항체법 등의 각종 혈청학적진단법이 개발되어 왔으며, 보체결합반응과 간접형광항체시험을 많이 이용하고 있다^{4, 10, 16, 23)}.

최근 한우를 일본에 수출함에 있어서 일본의 검역기준에 따라 Anaplasmosis에 대한 보체결합반응을 이용하여 음성의 한우를 선별하여 수출할 목적으로 진단액을 1986년도부터 국내에서 생산하고 있으며, 가축위생시험소에서는 Anaplasmosis carrier 검출을 위해 이 진단액을 분양받아 사용하고 있다^{23, 24)}.

정부에서는 축산진흥 정책의 하나로서 1991년 8월 호주로부터 산양을 수입하는 등 미국, 뉴질랜드, 그리고 호주 등지에서 여러종류의 젖소, 육용소, 면양 등이 수입 사육되고 있어¹⁸⁾, 앞으로 외래성 곤충매개성 전염병의 확산이 예측되며, 국내 일부지역에서 수입산양과 재래산양에서 Anaplasmosis의 예를 접한 바 있다¹⁸⁻²⁰⁾.

현재까지 국내에서는 재래산양의 Anaplasmosis 발생보고 사례가 거의 없으며, 경북지방에서는 전무하여 경북지방에서 사육중인 재래산양의 Anaplasma충체를 확인하고, 보체결합반응에 의한 혈중항체를 증명하여 농가에서 사육하고 있는 재래산양의 Anaplasma에 대한 감염실태 및 항체보유율을 파악하고자 본조사를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 공시동물

재래산양 209두의 Anaplasma에 대한 적혈구내 충체감염율과 242두의 혈중 항체보유

을을 조사하기 위하여 1996년 1월부터 10월 까지 경북서부지역의 2개 도축장에서 도축되고 있는 재래산양의 경정맥으로 부터 혈액을 채혈하였다. 재래산양의 적혈구내 총체감염을 조사를 위한 혈액도말표본 작성용 혈액은 EDTA첨가 C.B.C bottle에 약 2cc정도 분주하여 즉시 실험실로 옮겨 표본을 작성하였고, 혈중항체보유율 조사를 위해서는 멸균 tube에 20cc정도되게 채혈한 후, 4℃에서 1야 보관후에 혈청을 분리하여 사용시까지 -20℃ deep freezer에 보관하였다.

2. 혈액도말표본

항응고 처리한 혈액으로 최대한 얇게 도말하여 박층 혈액도말표본을 작성한 후 absolute methyl alcohol로 10분간 고정하고 Giemsa 염색액에 약 40분 동안 염색하였다.

Giemsa 염색방법을 이용한 총체의 조사는 혈액도말표본상의 특히 얇은 끝부분에서 현미경 1,000배의 배율하에서 1매당 10시야씩 경검하여 총체출현 여부를 조사하였다.

3. 보체결합반응

가. 면양혈구(sheep red blood cells)

보체결합반응(Complement-Fixation test, CF test)에 사용한 면양혈구는 Scott 등¹³⁾의 방법에 따라 세척 및 희석하였다. 항응고제로 Alserver's solution을 사용하여 면양혈액과 그 양이 1:1이 되게하여 jugular vein에서 채혈하였다. 채혈한 면양혈액을 1500rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 버리고 적혈구를 취하여 phosphate buffer saline(PBS)로 원심세척하고 Alserver's solution에서 4℃에서 보관, 사용전에 Veronal buffered saline(VBS)에 3회 원심세척하고 2%부유액을 만들어 즉시 실험에 사용하였다.

나. 항원(antigen)

수의과학연구소에서 Anaplasma 진단용 항

원을 분양받아 4℃에서 보관하고, 사용할 때는 2단위가 되도록 VBS로 희석하여 사용하였다.

다. 보체와 용혈소(Guinea pig complement and hemolysin)

기니픽에서 얻은 보체와 용혈소를 수의과학연구소에서 분양받아 실험에 사용하였다.

라. 표준혈청 및 가검혈청

수의과학연구소에서 분양받은 표준양성혈청은 VBS로 10배 희석하여 사용하였고, 가검혈청은 56℃ water bath에서 30분간 가열하여 비동화 시켜 5배 희석하여 사용하였다.

마. 보체결합반응(complement-fixation test)

Christensen 등⁴⁾과 Scott 등¹³⁾의 방법에 따라 5배 희석한 가검혈청을 macroplate에 넣고 희석된 항원과 보체를 가하여 잘 혼합한 뒤 37℃에서 30분간 반응시킨 후 면양혈구 부유액을 가하고 37℃에서 45분간 반응시켰다. 이때 15분 마다 plate를 진탕 혼합하였다. 이후 정확한 판독을 위하여 4℃에서 2-3시간 정치 후 판독하였다. 항체검사에서 가검혈청이 완전 용혈저지되고 항원대조 흡에서 완전 용혈했을 경우 항체양성으로 판정하였다.

결 과

1996년 1월부터 10월까지 경북서부지역 2개 도축장에서 도축되고 있는 재래산양 209두에서 혈액도말 표본상의 적혈구내 Anaplasma 총체출현율은 Table 1과 같다. 적혈구내 Anaplasma 총체출현율은 계절별로 봄이 15.3%, 여름 20.0%, 가을 39.3%, 겨울이 16.9%로 나타나 가을에 총체출현율이 가장 높았고 봄이 가장 낮게 나타났다(Fig 1).

재래산양 204두로 부터 보체결합반응을 이용하여 *Anaplasma* 항체보유율(양성율)을 조사한 결과는 Table 2와 같다. *Anaplasma* 항체보유율은 봄이 80.2%, 여름 79.0%, 가을 85.7%, 겨울이 62.0%로 나타났다(Fig 2).

Table 1. Results of blood smear examination by means of Giemsa stain.

Season	No. of samples tested	No. of infection	Rate(% of infection)
Spring	72	11	15.3
Summer	50	10	20.0
Fall	28	11	39.3
Winter	59	10	16.9
Total	209	42	(20.1)

*Numeral in parenthesis indicates percent of infection rate against total tested.

Table 2. Results of *Anaplasma* antibody detection for goat sera by CF test

Season	No. of sera tested	No. of positive(%)
Spring	81	65(80.2)
Summer	62	49(79.0)
Fall	28	24(85.7)
Winter	71	44(62.0)
Total	242	182(75.2)*

*Numeral in the parenthesis indicates percent of positive rate against total tested

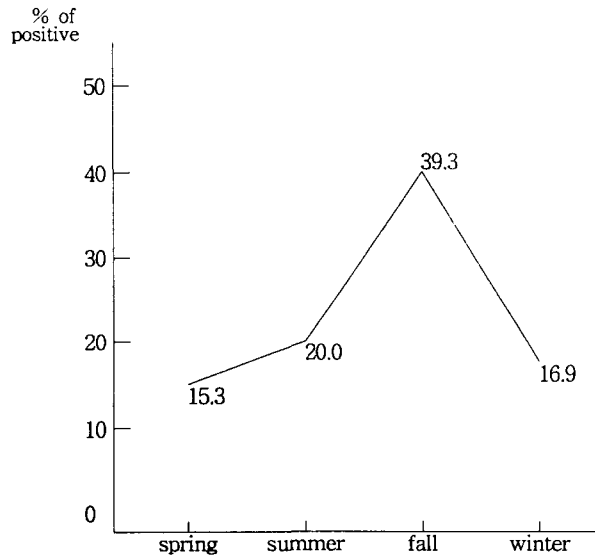


Fig 1. Seasonal rates of infection from the blood smear examination by means of Giemsa stain.

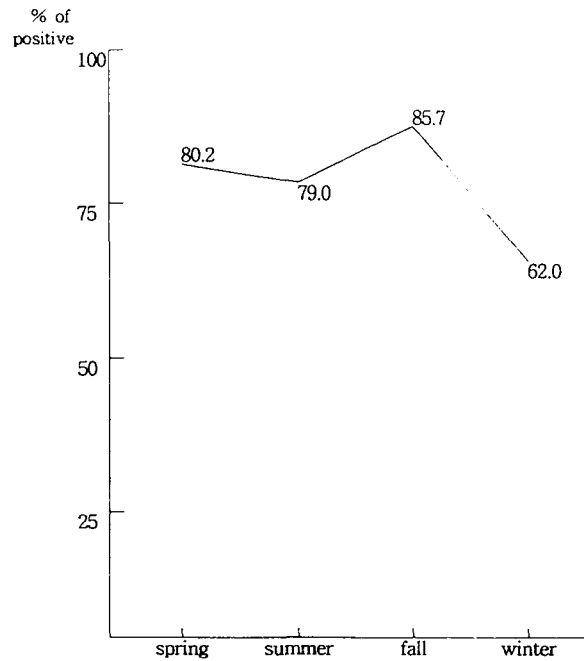


Fig 2. Seasonal distribution of *Anaplasma* antibody for goat sera by CF test.

고 찰

경북 서부지역에서 사육하고 있는 재래산양의 적혈구내 *Anaplasma* spp 감염상황을 조사한 결과 재래산양 209두중 42두에서 *Anaplasma*가 관찰되어 20.1%의 감염율을 나타냈으며, 계절별로 봄 15.3%, 여름 20.0%, 가을 39.3%, 겨울 16.9%의 감염율을 나타냈다. 이는 백 등¹⁸⁾의 전북지역 사슴목장에서 빈혈 등의 임상증상을 나타내는 20두에서의 감염율 40%, 백 등²⁰⁾의 전북지역 재래산양 130두에서 62.8%, 전 등²²⁾의 서울지역 소를 대상으로 한 조사에서 7.5%의 성적들과는 상당한 차이가 있었다. 본 조사 성적은 전북 지역과는 사육환경이 다르고 일반적으로 외관상 건강한 재래산양을 대상으로 하였기에 전북지방 보다는 총체감염율이 낮은 것으로 사료되며, 또한 *Anaplasma* spp는 감염초기에 적혈구내에서 관찰할 수 있고 내과한 carrier에서는 병원체가 소실되어 현미경상으로 증명하기 어려워 실제의 감염율은 더 높으리라 추측된다.

계절별 총체감염율은 가을이 39.3%로 가장 높고, 여름 20.0%, 겨울 16.9%, 봄 15.3%의 순으로 나타났다. 이는 전 등²²⁾의 서울지역 소를 대상으로 한 계절별 조사와는 그 수치에서 차이가 있기는 하나 가을이 가장 높다는 성적과는 일치하였다.

재래산양의 혈청내 *Anaplasma* 항체보유율 조사에서는 재래산양 242두중 182두가 *Anaplasma* 항체를 보유하여 보유율 75.2%를 나타냈으며, 계절별로는 각각 봄 80.2%, 여름 79.0%, 가을 85.7%, 겨울 62.0%로 나타났다.

이는 1961년 Gainer⁵⁾가 390두의 소를 대상으로 한 조사에서 45.9%, 1962년 Welfer¹⁶⁾의 45두의 소를 대상으로 한 조사에서 64.6%, 1982년 Smith 등¹⁴⁾의 175두의 사슴과 54두의 소를 대상으로 한 조사에서 각각 14%, 13%, 1983년 Swift 등¹⁵⁾의 140두의 소를 대상으로 한 조사에서 17.0%로 보고하여 본

조사성적 75.2%와는 상당한 차이가 인정되었다. 이는 지난 10년전 부터 주혈기생충병이 유행하는 지역으로부터 수입된 가축이 재래가축들과 함께 사육된 점과 우리나라에서와 같이 산양과 소 등이 함께 초지에서 사육되는 환경적 조건을 고려해 볼때, 경북서부지역의 재래산양에서도 *Anaplasma*에 노출될 가능성이 상당히 높으며, *Anaplasma*의 경우 숙주에 대한 병원성에서 차이가 있기는 하나, 숙주간 교차감염의 가능성이 높다고 할 수 있어 앞으로도 계속적인 조사가 필요하다고 생각된다.

본 조사 성적으로 미루어 보아 국내에서도 *Anaplasmosis*에 의한 피해가 우려되며, 국가적으로 본 질병에 대한 감염율과 항체분포조사 등이 조속히 이루어져야 할 것이며 예방약을 개발하는 등의 방역대책이 조속히 강구되어야 할 것으로 생각된다.

결 론

경북 서부지역에서 사육되고 있는 재래산양 209두의 적혈구내 *anaplasma* 총체출현율과 혈청내 재래산양 242두의 *anaplasma* 항체보유율을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 혈액 도말표본상의 적혈구내 *anaplasma* 총체출현율은 계절별로 봄이 15.3%, 여름 20.0%, 가을 39.3%, 겨울이 16.9%로 나타났다.
2. *anaplasma* 항체양성율은 보체결합반응을 실시하여 본 결과 계절별로 봄이 80.2%, 여름 79.0%, 가을 85.7%, 겨울이 62.0%로 나타났다.

참 고 문 헌

1. Bedell DM, Dimopoulos GT. Biologic Properties and Characteristics of *Anaplasma marginale*. I. Effects of Temperature

- on Infectivity of Whole Blood Preparations, *Am J Vet Res*, 23:618~625, 1962.
2. Blood DC, Radostits OM. *Veterinary Medicine*, 7th ed, Bailliere Tindall, 964 ~ 967.
 3. Brock WE. Anaplasmosis Vaccines and Their Relation to Anaplasmosis Control, *JAVMA*, 147(1):1563-1566, 1965.
 4. Christensen JF, Osebold JW, Rosen MN, Infection and Antibody Response in Deer Experimentally Infected with *Anaplasma Marginale* from Bovine Carriers, *JAVMA*, 289-292, 1958.
 5. Gainer JH, Demonstration of *Anaplasma marginale* with the Fluorescent Dye, Acridine Orange ; Comparisons with the Complement Fixation Test and Wright's Stain, *A J V R*, 882-886, 1961.
 6. Garlick NL, National Consideration In Relation to Anaplasmosis, *JAVMA*, 147 (12): 1576-1579, 1965.
 7. Jones EW, Kliewer IO, Norman BB, Brock WE. *Anaplasma marginale* Infection in Young and Aged Cattle, *AmJ Vet Res*, 29(3):535-544, 1968.
 8. Magonigle RA, Eckblad WP, Lincoln SD, Frank FW. *Anaplasma ovis* in Idaho Sheep, *Am J Vet Res*, 42(2), 199-201, 1981.
 9. Rea GB, Problems of Anaplasmosis Control in Tick-Infested Areas of the Northwest, *JAVMA*, 147:1567-1569, 1965.
 10. Ristic M.A Capillary Tube-Agglutination Test for anaplasmosis-A Preliminary Report, *JAVMA*, 141(5), 588-594, 1962.
 11. Ristic M, Kreier Jp. *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8th ed, The williams & wilkins Co, 1:719-722, 1984.
 12. Safford JW, Problems of Establishing Anaplasmosis-Free Herds in Montana, *JAVMA*, 147(12),1570-1572, 1965.
 13. Scott GR, Taylor WP, Rossiter PB. Manual on the diagnosis of rinderpest, FAO Animal Production and Health service number 23, 63-76, 1986.
 14. Smirh RD, Woolf A, Hungerford LL, Sundberg JP, Serologic evidence of *Anaplasma marginale* infection in Illinois White-tailed deer, *JAVMA*, 181(11) : 1254-1256, 1982.
 15. Swift BL, Thompson GM, Bovine anaplasmosis : Elimination of the carrierstate with injectable long-acting oxytetracycline, *JAVMA*, 183(1): 63-65, 1983.
 16. Welter CJ, Zeuschek F, Properties of *Anaplasma marginale* antigen used in a Capillary Tube - Agglutination test, *JAVMA*, 141(5): 595-598, 1962.
 17. Willer EH. A successful Anaplasmosis Eradication Program, *JAVMA*, 147(12): 1573-1575, 1965.
 18. 백병걸, 정재명, 손구레, 변선윤, 김남수, Kakoma I. 수입사슴에서의 anaplasmosis 관리대책마련을 위한 제언, *대한수의학회지*, 34(2):417-419, 1994.
 19. 백병걸, 진찬문, 서석열, 서이원, Kakoma I. 산양의 anaplasmosis에 대한 역학적 연구. I.전자현미경적연구, *대한수의학회지*, 34(2):381-386, 1994.
 20. 백병걸, 최인혁, 박강희, 김병수, 진찬문, 김천현, 이우정, 서석열, 서이원, 김동선. 재래산양과 호주산 산양에서의 Anaplasmosis 발생보고, *대한수의학회지*, 33(2): 289-293, 1993.
 21. 이재구. 최신수의기생충학, 대한교과서 주식회사, 539-541, 1993.
 22. 전영, 국내소의 주혈원충과 그 혈액학치에 관한 조사연구, *농사시험연구보고 (가축위생편)*, 13:81-87.

23. 전영, 박근식. 아나플라즈마병에 관한 연구, 3. 아나플라즈마병의 보체결합반응용 진단액 생산시험, 농시논문집(가축위생편), 31(3):11-16, 1989.
24. 전영, 위성환, 박근식. 아나플라즈마병에 관한 연구, 4. 소의 아나플라즈마병에 대한 간접형광항체 진단시험, 농시논문집(가축위생편), 32(3):15-20, 1990.
25. 최원필, 안희종, 김순재. 수의전염병학, 경북대학교 출판부, 105-107, 1994.
26. 한태우, 전영, 김삼기. 진드기에 관한 연구, 제2보, 한우에 기생하는 진드기의 월별 소장에 대하여, 농사시험연구보고, 10(5):25-33.