

## 자돈의 톡소플라즈마증 발생

노인순 · 한정희 · 김재훈\* · 안병우\*\*

강원대학교 수의학과 · 수의과학연구소\*

식품의약품 안전본부\*\*

(1997년 9월 7일 접수)

### Toxoplasmosis in piglets

In-soon Roh, Jeong-hee Han, Jae-hoon Kim\*, Byeong-woo Ahn\*\*

*Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University*

*National Veterinary Research Institute\**

*Korean Food and Drug Administration\*\**

(Received Sep 7, 1997)

**Abstract** : Suckling piglets and weaned pigs showed anorexia, dehydration, severe abdominal breathing, emaciation and paresis from Oct. 1993. to Nov. 1993. Five 2-week-old piglets were submitted for diagnosis in Kangwon National University. At necropsy, the pin-point well demarcated yellowish white foci were scattered on the surface of the lung, heart, liver, spleen and kidney.

Histologically, multifocal areas of necrosis with mononuclear cells infiltration were found in the lung, heart, liver, lymph node, spleen, kidney and small intestine. These lesions tended to be associated with blood vessels. Variable round to ovoid tachyzoites were located at the periphery of the lesions. The organisms were demonstrated as *Toxoplasma gondii* by immunohistochemical staining method.

Ultrastructurally, this parasite was surrounded with parasitophorous vacuole in alveolar macrophage. The parasite was crescent-shaped and  $6\sim 8 \times 1\sim 2\mu\text{m}$  in size. It was enclosed by an thick outer membrane and an underlying thin inner membrane. Several club-shaped paired organelles and conoids lay in the cytoplasm at the anterior. Numerous round body and one to several mitochondria were presented in the cytoplasm.

Based on the gross findings, histopathology, immunohistochemical and electron microscopic findings, this case was diagnosed as toxoplasmosis in piglets.

**Key words** : toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, tachyzoite, piglets.

## 서 론

톡소플라즈마증은 사람과 조류를 포함한 다수의 온혈 동물에 널리 퍼져 있는 질병이다<sup>1,2</sup>. 톡소플라즈마증의 원인체인 *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*)는 편성세포내 기생성 기생충이며<sup>1,2</sup> 타키조이트, 조직내 낭포내의 브라디조이트 및 낭포체내 스포로조이트의 3가지 감염형을 가진다<sup>2</sup>. 타키조이트는 급성형의 경과를 취하는 반면 브라디조이트는 만성형으로 뇌와 근육에 나타난다<sup>3</sup>. 또한 *T. gondii*의 VEG주는 근육친화성이 매우 높아 특히 허에 집락화하는 경우가 많다<sup>4</sup>. 조직내 낭포와 낭포체 형태는 근육내에 오랜 기간동안 생존이 가능하고 -12℃에서 3일까지 살아있고<sup>5</sup>, 64℃에서 3분간 가열하여도 생존할 수 있기 때문에 돼지고기는 *T. gondii*를 사람에게 전파시키는 주된 원인이 되고 있다<sup>6</sup>.

돼지 톡소플라즈마증은 고양이, 설치류, 조류 및 사료와 토양 등에 의해<sup>7</sup> 또는 돼지간의 cannibalism에 의해<sup>8</sup> 전파되는 것으로 추정된다. 돼지에 있어서 톡소플라즈마증은 대부분 준임상형을 나타내는 경우가 많으나<sup>9</sup> 심하게 감염되었을 때에는 허약, 호흡곤란, 신경증상 등의 임상증상을 나타낸다. *Dubey et al*<sup>10</sup>은 설사를 주증으로 하는 농장에서, *Moriwaki et al*<sup>11</sup>은 유·사산이 빈발한 농장에서 톡소플라즈마증을 보고한 바 있어 돼지에서 태반을 통해 *T. gondii*가 전파됨을 시사하였다.

본 저자들은 강원대학교 병리학교실에서 부검의뢰된 2주령의 포유자돈 5두에 대한 병리학적 검사, 면역조직화학 염색 및 전자현미경적 검사결과 "톡소플라즈마증 (Toxoplasmosis)"으로 판명되었기에 그 증례를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

1993년 10월부터 11월에 걸쳐 1,500두 규모의 양돈장에서 30% 정도의 유·사산과 더불어 포유자돈부터 이유자돈에 걸쳐 식육절폐, 탈수, 거친 피모, 심한 복식호흡, 수척, 안구주위 종창 및 신경증상을 보인 농장에서 대표적인 증상을 보인 2주령 포유자돈 5두를 살처분하여 부검을 실시하였다.

일반적인 부검술식에 준하여 세밀히 외관검사를 실시한 후 개복하여 각종 실질장기에 대한 육안병변을 관찰

하였고, 실질장기를 적출하여 10% 중성 포르말린 용액에 고정시킨 다음 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀에 포매하였다. 4 $\mu$ m의 두께로 조직절편하여 hematoxylin-eosin(H&E) 염색을 실시한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

*T. gondii*의 항원을 검출하기 위해 폐장과 악하 림프절의 파라핀 조직에 대하여 Hsu *et al*<sup>12</sup>의 방법에 따라 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 파라핀 조직을 탈파라핀시킨 다음 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 함유 무수메탄올에 30분간 처리하고 normal serum으로 30분간 반응시켰다. 일차항체는 *T. gondii* 다클론항체(BioGenex Laboratory, USA)를 20배로 희석하여 4℃에서 24시간 처리한 후 차가운 PBS로 수세하였다. 이차항체는 biotinylated goat anti-rabbit IgG(Vector Elite ABC Kit, PK-6101, Vector Lab. Inc., Burlingame, USA)를 30분간 반응시키고 avidin-biotin complex 용액을 30분간 적용시킨 다음 DAB(3,3'-diaminobenzidine tetrachloride)로 발색시켰다. 핵 대조염색으로 Mayer's hematoxylin 염색을 실시하였다.

전자현미경으로 원충의 미세구조를 관찰하기 위해 폐장을 1mm<sup>3</sup> 크기로 세절하여 4% paraformaldehyde와 4% glutaraldehyde 용액에 전고정한 다음 1% osmium tetroxide 용액에 후고정하였으며 통상적인 탈수과정을 거쳐 epon으로 포매하였다. 70nm의 두께로 초박절편하여 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과전자현미경(Philips CM12)으로 관찰하였다.

## 결 과

육안소견 : 돼지는 피모가 거칠고 수척하였으며 안구주위 종창과 후구마비 증상을 보였다. 악하림프절은 유백색조로 종창되어 있었으며 할단면은 한계가 불분명한 자적색 발적부위가 관찰되었다. 폐장은 반죽경도를 나타내었고 표면은 습윤하며 소엽간 결합조직은 비후되어 있고, 1mm 내외의 유백색 반점이 촘촘히 자리잡고 있었다. 심장의 심관부 지방직은 교양화되어 있었으며 심외막, 비장 및 신장에는 1mm 내외의 유백색 반점이 산재하여 있었다. 간장은 담적색조로 변연은 다소 둔하였으며 직경 1mm 정도의 유백색 반점이 밀발하여 있었다 (Fig 1). 소장내에는 황갈색조의 끈끈한 내용물이 소량 들어 있었고 점막은 다소 창백하였으며 곳곳에 직경 1~1.5cm 정도의 조직함몰부가 관찰되었다. 또한 장간막 림프절은 유백색조로 심하게 종창되어 있었다.

병리조직학적 소견 : 각 장기는 대부분 다병소성 괴사와 염증반응이 수반되어 있었으며 병변내에는 원형 또는 길쭉한 타원형의 타키조이트가 관찰되었다.

폐장에는 폐포 큰포식세포의 침윤으로 폐포벽이 비후된 간질성 폐렴소견이 있었으며 일부 폐포강에는 형질세포, 큰포식세포 및 다핵거대세포의 침윤도 관찰되었다. 소엽간 결합조직은 단핵세포, 소수의 호중구 침윤과 수종성 변화로 인하여 비후되어 있었다. 폐장 전반에 걸쳐 다병소성 괴사소가 흩어져 있었으며, 이러한 병변은 주로 혈관, 세기관지, 폐포벽과 관련되어 관찰되는 양상을 나타내었다. 병변내 혈관벽은 균질무구조한 호산성 물질이 침착해있는 섬유소양 변성(fibrinoid degeneration)과 아울러 괴사되어 있었으며 일부 세기관지 상피세포는 증식되어 여러 층으로 비후되어 있었다. 대다수의 타키조이트는 다병소성 괴사소주위의 혈관내피세포, 세기관지상피세포 및 폐포 큰포식세포의 세포질내에 감염되어 있고 일부는 조직사이에 흩어져 있는 유리상태로 존재하였는데, 1개에서 많게는 수개에 이르기까지 다양하게 관찰되었다(Fig 3, 4).

심장의 심근섬유(myocardial fibers) 사이에는 단핵세포의 침윤으로 인한 심근염 소견이 관찰되었으며 일부 심근섬유는 괴사와 광물질 침착이 동반되어 있었다. 또한 심근 섬유사이의 혈관주위에서 유리상태의 타키조이트를 관찰할 수 있었다(Fig 2).

간장에는 응고괴사소(coagulative necrotic foci)가 흩어져 있었으며 일부 괴사소는 에오신에 농염된 섬유소와 적혈구가 혼재되어 있는 특징적인 섬유소양 괴사(fibrinoid necrosis)가 관찰되었다. 병변주위의 간세포와 쿠퍼세포에는 타키조이트가 관찰되었으며 소수의 림프구가 침윤되어 있었다.

대뇌와 소뇌의 거미막에는 소수의 림프구가 침윤되어 있고, 뇌실질내에는 다병소성 소교세포증(gliosis) 소견이 관찰되는 비화농성 뇌막뇌염 소견이 나타났으나 원충은 관찰할 수 없었다.

악하립프절과 장간막립프절은 세망세포의 증식으로 인하여 피막하동과 지주동 사이가 넓어져 있었으며 그 사이에는 황갈색의 색소를 가진 다수의 hemosiderocyte가 존재하였고, 일부 세망세포내에서 타키조이트가 관찰되었다. 또한 실질에는 곳곳에 응고괴사 소견이 관찰되었다.

소장에는 점막과 점막하직에 이르는 궤양이 국소적으로

로 관찰되었으며 그 주위에는 단핵세포와 호중구가 침윤되어 있었다.

비장과 신장에서도 다병소성 괴사소가 관찰되었으나 원충은 관찰할 수 없었다.

면역조직화학 염색 : 폐장과 악하립프절에 대한 *T gondii* 다클론항체를 이용한 면역조직화학염색 결과, 폐장에서는 비후된 폐포벽과 폐포강내에 침윤된 폐포 큰포식세포, 다핵거대세포의 세포질내에서 암갈색조의 원형 또는 타원형의 톡소플라즈마 타키조이트를 확인할 수 있었고(Fig 6), 곳에 따라 폐포 모세혈관 내피세포의 세포질내 또는 조직 사이에 유리된 상태로 암갈색의 원충이 관찰되기도 하였다. 림프절에서는 피막하동 또는 괴사가 동반된 수질동의 세망내피세포내에 또는 조직사이에 유리되어 있는 톡소플라즈마 타키조이트를 확인할 수 있었다(Fig 5). 기타 장기에 대한 면역조직화학 염색은 실시하지 않았다.

전자현미경적 검사 : 폐장의 조직만을 검사한 결과, 폐포 큰포식세포의 세포질에는 큰 공포가 형성되어 있고, 공포 내부에는 1-9개 정도의 원충이 관찰되었으며 일부의 원충은 세포 외부에 흩어져 유리된 상태로 관찰되기도 하였다. 대부분의 원충은 앞이 뾰족하고 뒤는 둥근 초승달모양으로 apicomplexa에 속하는 원충의 타키조이트와 같은 형태를 지니고 있었다. 타키조이트는 6-8×1-2μm 크기로 외부는 두껍고, 내부는 비교적 얇은 두껍의 막으로 둘러싸여 있었으며 앞쪽 끝에는 conoid, polar ring, paired organelle가 관찰되었고 몸체에는 round body, 미토콘드리아 등의 세포 소기관과 뒤쪽부분에 치우쳐 있는 핵이 관찰되었다(Fig 7).

## 고 찰

돼지의 톡소플라즈마증은 1952년 Farrell *et al*<sup>13</sup>에 의해 최초로 보고되었으며, 우리나라에서는 1964년 문<sup>14</sup>에 의해 돼지로 부터 *T gondii* 원충이 분리되어졌다. 톡소플라즈마는 혈류를 통해 전신감염을 일으키고 각 장기내에 다병소성 괴사를 유발하는 것으로 알려져 있으며, 때로 숙주내에 수년간 조직내 낭포형태로 잠복감염을 일으킬 수도 있다<sup>3</sup>.

본 돼지의 *T gondii* 감염에의 병리조직학적 소견은 전체 실질장기에 다병소성 괴사소가 산발적으로 출현하였으며 병변내 또는 주변부에 타키조이트가 관찰되었고

특히 혈관주위에서 다수 관찰되는 특징을 나타내었다. 이는 *T gondii*의 타키조이트가 혈관내피세포에 친화성이 있는 것으로 시사되며, Dubey *et al*<sup>10</sup>의 보고와 대체로 일치하는 소견을 나타내었다. 본 예의 농장에서는 전체 두수에 대한 *T gondii*의 혈청검사가 이루어지지 않았기 때문에 이 농장내 유·사산 발생과 *T gondii* 감염과의 직접적 연관성은 확인할 수 없었다. 그러나 톡소플라즈마는 태반감염 또는 초유와 침을 통한 후천성 감염을 일으킨다<sup>9</sup>. 태반을 통해 전파되면 유·사산 등의 번식장대를 유발하거나 허약자돈을 생산하게 되고, 감염된 자돈의 경우 뇌, 심장, 혀, 골격근 등에 조직내 낭포가 존재하고 모든 태반의 영양아세포에도 다수의 타키조이트와 조직내 낭포가 관찰된다. 본 예의 경우 뇌에서 조직내 낭포나 타키조이트는 관찰되지 않았으며 비화농성 뇌막뇌염만이 관찰되었다. 반면 소장에서는 국소적인 케양병변과 장염이 동반되어 있었으며 장간막 림프절에는 다수의 타키조이트와 응고괴사소가 관찰된 것으로 볼 때, 본 포유자돈 예는 *T gondii*의 낭포체를 섭취하여 발생한 후천성 감염으로 사료된다.

톡소플라즈마와 유사한 원충으로는 *Sarcocystis*와 *Neospora caninum*을 들 수 있는데 이들은 형태학적으로 매우 유사하기 때문에 특별히 감별진단을 요한다<sup>15</sup>. 따라서 본 예에서는 폐장의 전자현미경적 관찰을 통해 apicomplexa에 속하는 타키조이트의 미세구조를 관찰하였으며 *T gondii* 특이 다클론항체를 이용한 면역조직화학 염색을 실시하여 폐장과 악하 림프절의 괴사부위와 그

주변부에서 특징적인 *T gondii* 타키조이트를 확인하였다.

## 결론

1993년 10월부터 11월에 걸쳐 1,500두 규모의 양돈장에서 30% 정도의 유·사산과 더불어 포유자돈·이유자돈의 식욕절폐, 탈수, 거친 피모, 심한 복식호흡, 수척 및 신경증상을 보인 농장에서 2주령 포유자돈 5두에 대한 병리조직학적, 면역조직화학적 및 전자현미경 검사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 육안적으로 폐장, 심장, 간장, 비장, 신장 등 실질장기의 표면에는 직경 1mm 정도의 유백색 반점이 산재하여 있었다.
2. 병리조직학적 소견으로 대부분의 실질장기에 혈관 주변성의 다병소성 괴사소가 관찰되었으며 병변부에서 원형 또는 타원형의 타키조이트가 다수 관찰되었다.
3. *T gondii*에 대한 다클론항체를 이용한 면역조직화학 염색을 실시하여 폐장의 폐포벽과 큰 포식세포, 악하 림프절의 수질동에 있는 세망내피세포내에서 *T gondii*의 항원을 검출하였다.
4. 전자현미경 검사시 apicomplexa에 속하는 타키조이트의 전형적인 구조가 관찰되었다.
5. 이상의 결과를 종합하여 자돈에서 발생한 "톡소플라즈마증(Toxoplasmosis)"으로 진단하였다.

## Legends of figures

Fig 1. The pin-point yellowish white foci(arrow) are observed in the liver and spleen of 2-week-old piglet.

Fig 2. Heart. Numerous tachyzoites(arrowhead) are presented at the periphery of the blood vessel. H&E.

Fig 3. Lung. Note the focal necrosis(N) in the alveolar septa and blood vessel. H&E.

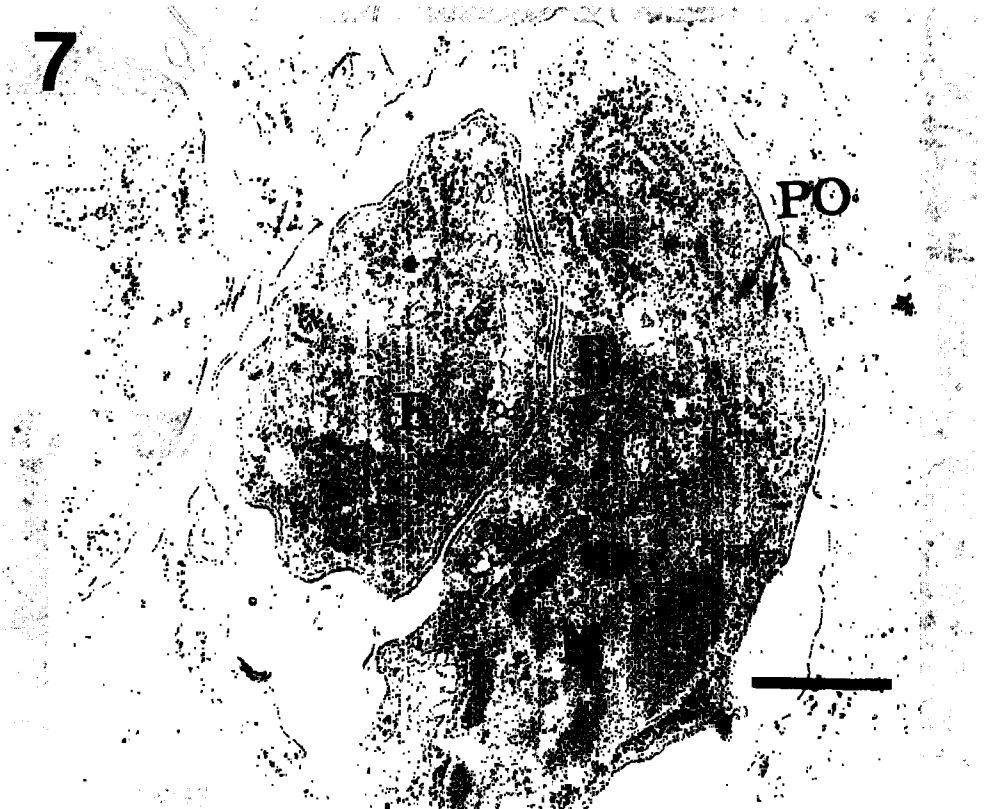
Fig 4. Higher magnification of Fig 3. Various round to ovoid tachyzoites(arrowhead) are in the alveolar macrophages. H&E.

Fig 5. Positive reaction of *T gondii* antigens is observed in reticuloendothelial cells of lymph node. ABC stain.

Fig 6. Strong positive reaction of *T gondii* antigens(arrowhead) is observed in the alveolar macrophage. ABC stain.

Fig 7. Tachyzoite in parasitophorous vacuole of alveolar macrophage. Tachyzoites of *T gondii* contain paired organelle(PO), round body(R) and a nucleus(N). TEM. bar = 1µm.





## 참 고 문 헌

1. Dubey JP. Toxoplasmosis. *JAVMA*, 205:1593~1598, 1994.
2. Dubey JP. Toxoplasmosis. Veterinary clinics of North America : *Small Animal Practice*, 17:1389~1403, 1987.
3. Levine ND. Veterinary protozoology. 1st ed, *Iowa State University Press Ames*, Iowa:pp. 248~254, 1985.
4. Dubey JP, Lunney JK, Shen SK, *et al.* Infectivity of low numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts to pigs. *J Parasitol*, 82:438~443, 1996.
5. Dubey JP. Long-term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. *Am J Vet Res*, 49:910~913, 1988.
6. Dubey JP, Kotula AW, Sharar A, *et al.* Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *J Parasitol*, 76:201~204, 1990.
7. Dubey JP, Weigel RM, Siegel AM, *et al.* Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection of 47 swine farms in Illinois. *J Parasitol*, 81:723~729, 1995.
8. Dubey JP, Murrell KD, Hanbury RD, *et al.* Epidemiologic findings on a swine farm with enzootic toxoplasmosis. *JAVMA*, 189:55~56, 1986.
9. Dubey JP. A review of toxoplasmosis in pigs. *Vet Parasitol*, 19:181~223, 1986.
10. Dubey JP, Weisbrode SE, Sharma SP, *et al.* Porcine toxoplasmosis in Indiana. *JAVMA*, 174:604~609, 1979.
11. Moriwaki M, Hayashi S, Minami T, *et al.* Detection of congenital toxoplasmosis in piglet. *Jap J Vet Sci*, 38:377~381, 1976.
12. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex(ABC) in immunoperoxidase technique : A comparison between ABC and unlabeled antibody(PAP) procedures. *J Histochem Cytochem*, 29:577~580, 1981.
13. Farrell RL, Docton FL, Chamberlain DM, *et al.* Toxoplasmosis, I. *Toxoplasma* isolated from swine. *Am J Vet Res*, 13:181~185, 1952.
14. 문재봉. Toxoplasmosis에 관한 연구. 제1장. 돈으로 부터 *Toxoplasma* 분리. *농사실험연구보고*, 8:143~171, 1964.
15. Barker IK, Van Dreumel AA, Palmer N. Infectious and parasitic disease of the gastrointestinal tract. In : Jubb KVF, Kennedy PC and Palmer N, eds. *Pathology of domestic animals*. 4th ed. *Academic Press Ins*, pp.307~310, 1993.