

< Original Article >

대전 주택가 산책로 진드기의 인수공통전염병 병원체 감염실태 조사

한소영* · 성선혜 · 서진우 · 김종호 · 이석주 · 유상식

대전광역시보건환경연구원 동물위생시험소

Isolation and identification of tick-borne pathogens in hard ticks collected in Daejeon

So-young Han*, Sun-hye Sung, Jin-woo Seo, Jong-ho Kim, Seok-ju Lee, Sang-sik Yoo

Daejeon Institute of Health and Environment Division of Animal Health, Daejeon 34142, Korea

(Received 26 April 2021; revised 19 June 2021; accepted 19 June 2021)

Abstract

In this study, a total of 9,449 hard ticks were collected once a month from April to October 2020 from a neighborhood park in Daejeon by flagging & dragging method and CO₂ manned trap method. The collected ticks were classified according to the Yamagutsi search table using a stereoscopic microscope and molecular biological analysis of four pathogens (*SFTSV*, *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Borrelia* spp.). As a result of the study, *Haemaphysalis longicornis* were collected the most in all areas of the five boroughs at a rate of 82 to 96 percent, while adults were collected the most in May to July, nymphs were collected the most in April to June, and larvae from August to October at a rate of 78 percent to 98 percent. In pathogens, three cases of *SFTSV* were detected, showing a minimum infection rate (MIR) of 0.46%, while *Anaplasma* spp. and *Ehrlichia* spp. were detected one each, with 0.15% and *Borrelia* spp. with a minimum infection rate of 0.46%. The detected *SFTSV* showed 99.9% homogeneity with the KF781490 detected in Cheongwon-gun, Chungbuk Province, *Anaplasma* spp. showed 99.0% homogeneity with JN990105 detected in China, and *Ehrlichia* spp. showed 98.9% genetic similarity with U96436 separated from the U.S. In this study, the distribution status and pathogen infection rate of the hard ticks in the Daejeon area are analyzed and provided as basic data for the prevention of the hard tick-borne infectious disease.

Key words : Hard tick, SFTS, *Anaplasma*, *Borrelia*, Phylogenetic tree

서론

참진드기는 알, 유충, 약충, 성충의 4단계 발육 과정을 거치며 각 단계별로 탈피를 위해 숙주동물의 혈액을 필요로 하기 때문에 바이러스, 박테리아, 리케차, 기생충 등의 병원균을 전염시키는 전염병의 주요 매개체이다(Shu 등, 2015; CDC, 2017; Noh 등, 2017; Noh 등, 2019). 흡혈 과정 중 항응고제 등의 타액 성분을 숙주의 피부에 주입하는데 이 때, 진드기 체내의

세균, 바이러스, 기생충 등이 숙주로 전달되어 감염이 일어난다(Moon 등, 2013; Shin 등, 2013). 대부분의 참진드기는 각 발육 단계마다 흡혈 숙주를 바꾸는데 숙주 간 질병의 교차 감염 가능성이 높아 역학적으로 매우 중요한 질병 매개체로 여겨진다(Kim 등, 2012). 참진드기 매개질병의 병원체는 대부분 야생동물, 설치류, 조류, 파충류 및 사람에게 기생하며 질병을 일으키고 있으며 국내에서는 중증열성혈소판증후군바이러스(SFTSV), 진드기매개뇌염바이러스(*Tick-borne encephalitis virus*), *Borrelia* spp., *Bartonella* spp., *Coxiella* spp., *Rickettsia* spp., *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp. 등의 다

*Corresponding author: So-young Han, E-mail. lovebear@korea.kr
ORCID <https://orcid.org/0000-0003-1668-4104>

양한 병원체가 보고되어 있다(Chae 등, 2002; Kim 등, 2005; Lee 등, 2005; Moon 등, 2013).

중증열성혈소판증후군(SFTS)은 진드기 매개질환 중 가장 국민적 관심도가 높은 질환으로 국내에 가장 많이 서식하는 작은소피참진드기(*Haemaphysalis longicornis*)가 주요한 매개체로 알려져 있다(Kim 등, 2011; Chong 등, 2013). 원인체는 *Phenuiviridae*과 *Phlebovirus*속 *Huayangshan banyangvirus*에 속하는 SFTSV로서 2010년 중국에서 처음 보고되었고(Gai 등, 2012) 그 이후 일본에서도 보고 되었으며(Takahashi 등, 2014) 대한민국에서는 2013년 SFTS 환자가 처음 보고된 후 환자 발생이 매년 증가하여 2017년 이후 연간 200명 이상의 환자가 지속 발생하여 제3급 법정감염병으로 지정되었으며 2020년 7월 「감염병의 예방 및 관리에 관한 법률」에 따라 인수공통감염병으로 포함되었다. 주요 증상은 발열, 복통, 구토, 혈소판 감소증 및 백혈구 감소증이며 치료제는 없고 치사율은 5%~20%에 달한다(Yu 등, 2011; Kim 등, 2014; Yun 등, 2016; KCDC, 2020).

Anaplasma spp. (*A. phagocytophilum*, *A. bovis*, *A. marginale*)는 사람과 동물에 진드기를 통해 감염되어 아나플라즈마증을 일으키며 1994년 미국에서 최초 보고되었고 대한민국에서는 2014년에 처음 보고되었다. *Ehrlichia* spp. (*E. chaffeensis*, *E. phagocytophila*, *E. equi*, *E. ewingii*)는 에르리키아증의 원인체이며 1986년 미국에서 최초 보고된 후 지속 발생하고 있다(Qin 등, 2018). 대한민국에서는 2000년 미군병사에서 최초로 보고된 바 있다(KCDC, 2014).

아나플라즈마증과 에르리키아증은 모두 사람과 동물에서 급성 열성 질환을 일으키며 초기에는 가벼운 감기 증상처럼 나타나다가 급성 전신성 열성 감염병으로 진행되면서 호흡곤란이나 신부전, 패혈증 등을 일으킨다(Sachar 등, 2000; Ismail 등, 2010; Kim 등, 2013).

나선균의 일종인 *Borrellia* species (*Borrellia burgdorferi*, *Borrellia afzelii*, *Borrellia garinii*)는 Lyme병의 원인체이며(Picken 등, 1998) 주로 *Ixodes*속 참진드기에 의해 전파된다. *Ixodes scapularis*는 북미, *I. nipponensis*는 일본과 중국에서 라임병의 주요 매개 진드기로 보고되고 있으며(Steere 등, 1989) 1975년 미국의 라임 지방에서 환자가 보고된 이후 미국에서 가장 발생 빈도가 높은 절지동물 매개성 질병이며 유럽 및 아시아에서도 발생이 많은 것으로 보고되고 있다(Kim 등, 1998). 대한민국에서 라임병은 2012년 강원도 화

천에서 처음 확인된 이후 계속 증가하고 있으며 현재 제3급 감염병으로 관리되고 있다(질병관리본부, 2019). 주요 증상은 초기에 피부 병변으로 만성 유주성 홍반이 특징적으로 나타나며 두통, 근육통, 임파선 통증 등의 전신적 증상이 나타나다가 뇌막뇌염, 심근염 및 근골격통, 말초신경 장애를 일으키기도 한다(Hwang 등, 2011).

이들 진드기 매개 질환들은 2000년대 이후 우리나라에서 계속 증가하고 있는데 이는 대한민국이 점차 온대기후에서 아열대 기후로 변화하고 있으며 환경보존 정책의 영향으로 야생동물의 개체수가 점차 늘어남에 따라 참진드기의 밀도가 증가하고 있기 때문인 것으로 보인다(Suh 등, 2015; 국가가축방역통합시스템, 2020). 대전 지역은 지리적으로 한반도의 중부 지방에 위치하고 있어 우리나라의 평균 기후를 나타내고 있으므로 대전지역의 참진드기 분포 및 병원체 감염 여부 조사가 중요한 의미를 가진다고 할 수 있다.

또한, 2018년 대전지역 동물보호축제 현장에서 검사한 개 140두의 혈액을 간이키트(SNAP 4dx, idexx)로 검사한 결과 아나플라즈마증 양성 결과가 1두 있어(Han 등, 2020) 이에 반려동물의 진드기 매개 인수공통전염병 감염에 대한 관리가 필요하다는 인식에 따라 대전지역 진드기에 대한 추가적인 연구 조사를 실시하게 되었다.

본 연구에서는 진드기 매개 병원체에 대한 기초 정보를 제공하고자 주택가 인근 산책로의 참진드기를 채집한 후 진드기의 종을 분류, 동정하여 시기별 및 장소별 분포 특성에 대하여 조사하였으며 유전자 증폭방식으로 매개질환의 병원체를 진단한 후 염기서열을 분석하여 Blast를 진행하였다.

이에 진드기 매개 인수공통전염병 예방 교육 시 이 자료를 활용하여 사람과 동물의 인수공통전염병 병원체 감염률을 낮추는 데 기여하고 진드기 매개 병원체의 유행에 대비하는 예방자료로 활용하고자 이 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

채집 기간 및 장소

참진드기 채집은 2020년 4월부터 10월까지 7개월간 매월 1회 실시하였다. 진드기 채집지는 각 자치구 별

로 주택가 인근지역 산책로 3곳을 선정하여 5개구 총 15개 지점에서 채집하였다(Table 1, Fig. 1).

채집 방법

채집 방법은 첫날 1 m×1.2 m 천으로 쓸거나 끄는 Flaggging & Dragging법으로 약 100 m²에서 진드기를 채집하고, 같은 장소에 드라이아이스를 사용한 CO₂ 유인 트랩을 설치한 후 다음날 트랩 내외부에 포집된 진드기를 채집하였다. 채집한 진드기는 특수 제작한 코니컬튜브 (50 mL)에 모아 실험실로 옮겨 즉시 냉동 보관(-70°C)하였다.

종별, 발육단계별 분류 동정

채집한 진드기는 실체현미경(Olympus SZ61, Japan)을 이용하여 Yamagutsi 등(1971)이 제시한 검색표에 따라 동체부(idiosoma)와 악체부(gnathosoma)의 길이, 순판(scututum)과 화채(festoons)의 에나멜 무늬, 생식기의 모양, 의두(palps)와 촉수(palparticles)의 길이, 동체와 다리의 색 등을 관찰하여 종별, 성별, 성장단계별로 동정하였다.

유전자 추출

2.8 mm stainless-steel bead가 들어있는 분쇄용 튜브에 멸균된 PBS (phosphate buffer saline) 400 µL를 넣고, 유충은 최대 50개체, 약충은 30개체, 성충은 10개

체씩 지역별, 채집방법별, 종별, 성장 단계별로 구분한 후 pooling하였다. 분쇄기는 Precellys 24 tissue homogenizer (Bertin Technologies, Bretonneux, France)를 이용하여 8,000 rpm으로 30초씩 3회 분쇄하고, 분쇄된 진드기는 12,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리하였다.

DNA 및 RNA는 TANBead Nucleic Acid Extraction Kit (TANbead, Taiwan)를 이용하여 제조사가 제공한 방법에 따라 추출하였다.

SFTSV 검출

SFTSV의 검출을 위하여 M 절편의 핵단백질 유전자를 타겟으로 하는 MF3, MR2 primer set를 사용하여 reverse transcription PCR을 수행하였다(Table 2). 즉 2X RT-PCR Pre-Mix 10 µL, Primer-Forward (10 pmol/µL) 1 µL, Primer-Reverse (10 pmol/µL) 1 µL, Template DNA 8 µL, Final Volume 20 µL로 PCR 반응액을 제조하였다. RT-PCR은 50°C (30 min)에서 Reverse transcription 과정과 95°C (10 min)에서 Predenaturation 과정을 진행한 후 Amplification을 35 cycle (95°C/30 sec, 59°C/60 sec, 72°C/2 min)하고, 72°C (5 min)에서 Final extention을 수행하였다. PCR에서 수행된 1차 증폭산물 1 µL, Primer MMF3 (10 pmol/µL) 1 µL, MMF2 (10 pmol/µL) 1 µL를 Template DNA 8 µL와 섞고 Final volume 20 µL로 반응액을 제조하였으며 94°C (5 min)에서 Predenaturation과정을 진행한 후 Amplification을 35 cycle (94°C/20 sec, 59°C/20 sec, 72°C/20 sec)한 후, 72°C (5 min)에서 PCR을 수행하였다. PCR에서 생성된 산물을 1.2% Agarose gel에 100V로 전기영동하였으며

Table 1. Information of the tick collection sites in Daejeon, South Korea

District	Administrative location	GPS coordinates
Dong-gu	Gao-Neighborhood Park	36°3'-63"N 127°45'87"E
	Choji-Park	36°27'85"N 127°46'22"E
	Sanseo-ro	36°28'35"N 127°46'-8"E
Jung-gu	Sajung-Park	36°29'92"N 127°4'-69"E
	Daedunsan-ro	36°28'9-"N 127°37'23"E
	Baekcheon-Buddhist temple	36°29'92"N 127°39'56"E
Seo-gu	Sotae-Neighborhood Park	36°31'62"N 127°34'37"E
	Wolpyeong-Park	36°32'26"N 127°36'02"E
	Whaum-buddhist temple	36°29'90"N 127°36'64"E
Yuseong-gu	Sungdusan-Neighborhood Park	36°37'25"N 127°37'39"E
	Sinsung-Neighborhood Park	36°38'-5"N 127°35'35"E
	Bokyong-Urban natural Park	36°34'29"N 127°53'18"E
Daedeok-gu	Gilchi-Neighborhood Park	36°36'19"N 127°45'82"E
	Birae-Buddhist temple	36°37'-9"N 127°44'88"E
	Jangdong-Forest Park	36°4'-65"N 127°43'88"E

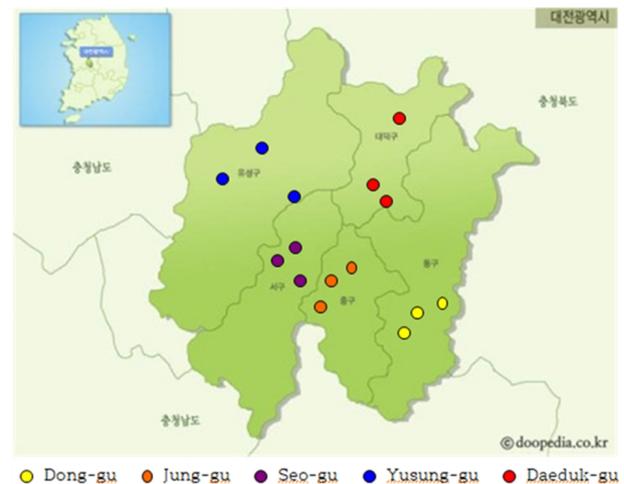


Fig. 1. Collecting sites of ticks in Daejeon.

Table 2. (RT)-PCR primer sets used for PCR

Target species	Primer	Nucleotide sequence (5'→3')	Target gene (size [bp])	Reference
SFTSV	MF3	GATGAGATGGTCCATGCTGATTCT	M segment (560)	Chae et al (2017)
	MR2	CTCATGGGGTGGAATGTCTCAC		
	MMF3	TAAACTTGTGTCGTGCAGGC	M segment (245)	
	MMF2	CCCAGCGACATCTCCTTACA		
<i>Anaplasma</i> Spp.	AE1F	AAGCTTAACACATGCAAGTCGAA	16s rRNA (1406)	Kang et al (2013)
<i>Ehrlichia</i> Spp.	AE1R	CCCTTCCGTTAAGAAGGATCTAATCTCC		
<i>Borrelia</i> Spp.	132f	TGGTATGGGAGTTTCTGG	<i>Fla</i> (774)	Wodecka et al (2007)
	905r	TCTGTCATTGTAGCATCTTT		
	220f	CAGACAACAGAGGGAAAT	<i>Fla</i> (605)	
	824r	TCAAGTCTATTTGGAAAGCAC		

반응의 결과 만들어진 산물의 크기는 1차는 560 bp였고 2차는 245 bp이었다. PCR 기기는 Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems, USA)를 사용하였다.

Anaplasma spp. 및 *Ehrlichia* spp. 검출

*Anaplasma*와 *Ehrlichia* 검출을 위하여 Table 2와 같이 Primer AE1-R, AE1-F를 사용하여 PCR을 수행하였다. 즉 2X PCR Pre-Mix 10 µL, Primer Forward (10 pmol/µL) 1 µL, Primer Reverse (10 pmol/µL) 1 µL, Template DNA 8 µL, final volume 20 µL로 PCR 반응액을 제조하였다. PCR 조건은 95°C (10 min)에서 Predenaturation하고, Amplification을 35 cycle (95°C/30 sec, 59°C/60 sec, 72°C/2 min)한 후, 72°C (5 min)에서 final extension하였다. PCR에서 생성된 산물을 1.2% Agarose gel에 100V로 전기영동하였으며 반응의 결과 만들어진 산물의 크기는 1,406 bp 이었다. PCR 기기는 Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems, USA)를 사용하였다.

Borrelia sp. 검출

Borrelia sp.의 16s rRNA 유전자 검출을 위하여 B1, B2 primer set를 사용하여 PCR을 수행하였다(Table 2). 즉 2X PCR pre-Mix 10 µL, Primer Forward (10 pmol/µL) 1 µL, Primer Reverse (10 pmol/µL) 1 µL, Template DNA 8 µL, Final volume 20 µL로 PCR 반응액을 제조하였다. PCR 조건은 95°C (10 min)에서 Predenaturation하고, amplification을 30 cycle (95°C/30 sec, 52°C/30 sec, 72°C/45 sec)한 후, 72°C (5 min)에서 final extension하였다. PCR에서 생성된 산물을 1.2% Agarose gel에 100V로 전기영동하였으며 반응의 결과 만들어

진 산물의 크기는 465 bp이었다. PCR 기기는 Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems, USA)를 사용하였다.

PCR 산물의 DNA 정제

PCR 산물은 LaboPass™ PCR Purification kit (Labopass, Korea)를 사용하여 정제하였다. PCR 반응물에 PB 완충용액을 5배 첨가하고 혼합한 후 혼합물을 spin column tube에 옮긴 후 PB 완충용액을 500 µL 첨가했다. 침전물이 형성되면 37°C에서 용해하고 1분간 13,000 rpm에서 원심분리한 후 column tube를 통과한 여과액은 제거하고, 750 µL의 PE 완충용액을 spin column tube에 혼합하여 넣은 후 다시 13,000 rpm에서 1분간 원심분리하고 여과액은 제거하였다. 다시 13,000 rpm에서 3분간 원심분리한 후 50 µL의 Elution buffer를 첨가하여 1분간 상온에 방치한 후 2분간 원심분리하여 DNA를 정제하였다. 정제된 DNA는 SYBR safe를 녹인 1% Agarose gel에서 전기영동한 후 gel doc을 통해 단일 밴드를 확인하였다.

Agarose gel 에서 DNA 추출

Agarose gel에서 확인된 DNA line을 가능한 가장 작게 잘라서 1.5 mL centrifuge tube에 옮긴 후 QG완충용액을 0.5 mL 첨가하여 50°C에서 15분간 방치한 후 Agarose gel이 완전히 용해된 것을 확인한 후 혼합물을 Binding column tube로 옮겨서 25°C, 13,000 rpm에서 1분간 원심분리하였다. Binding column tube를 통과한 여과액은 제거하고, 750 µL의 PE 완충용액을 binding column tube에 첨가한 후 25°C, 13,000 rpm에서 3분간 원심분리하였다. 25 µL의 Elution 완충용액

을 binding column tube에 첨가한 후 상온에서 10분간 방치하고 25°C에서 13,000 rpm으로 2분간 원심분리하여 원하는 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA는 1% Agarose gel에서 전기 영동한 후 SYBR safe로 염색하여 확인하였다.

염기서열의 결정

추출한 DNA를 주형으로 하여 2 pmol 의 Sense primer와 Antisense primer를 염기서열 결정에 이용하였다. BigDye TM Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Perkin-Elmer Applied Biosystem, USA)를 사용하여 95°C에서 30초, 50°C에서 5초, 60°C에서 4분간 25회 반복하여 반응시켰다. 반응 후 결과물을 3M sodium acetate (pH 5.8)와 Ethanol로 침전시킨 후 ABI 3730XL Genetic Analyser (Applied Biosystem, USA)를 이용하여 염기서열을 결정하였다.

염기서열의 분석

확인된 염기서열로 National Center for biotechnology Information (NCBI; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)에서 제공하는 Blast 및 Reference Sequences 등을 이용하여 가장 가까운 염기서열을 분석하였다. 이 염기서열은 Bioedit 프로그램을 사용하여 염기서열을 정렬하고 MEGA X program (Neighbor-joining phylogenetic tree using Maximum Composite Likelihood model with 1,000 bootstrap replications)을 이용하여 Phylogenetic analysis를 실시하였다.

결과 및 고찰

참진드기의 분포현황

2020년 4월부터 10월까지 대전시 5개 자치구 각 3개 지점 총 15개 지역에서 참진드기 총 9,449마리를 채집하였다. 채집된 참진드기 중 작은소피참진드기가 8,555마리(90.5%), 개피참진드기가 827마리(8.8%), 일본참진드기가 67마리(0.7%)로 채집된 참진드기 중 작은소피참진드기가 우점종이었다. 작은소피참진드기는 동구에서 1,324마리(96%), 중구에서 1,685마리(92%), 서구에서 1,839마리(82%), 유성구에서 1,386마리(91%), 대덕구에서 2,321마리(91%)로 지역에 상관없이 가장

많이 채집되었다(Fig. 2).

채집된 9,449마리의 참진드기 중 성충이 1,520마리(16%), 약충이 3,725마리(39%), 유충이 4,204마리(45%) 채집되었는데 성충은 5월~7월경 1,195마리(78%)로 많이 채집되었고 약충은 4월~6월에 3,323마리(89%)로 많이 채집되었으며 유충은 8월~10월에 4,108마리(98%)로 가장 많이 채집되었다(Table 3, Fig. 3).

전체 개체수는 날씨가 따뜻해지기 시작하는 5월에 급격히 증가하여 7월을 제외한 9월까지 많은 개체수를 유지하였으며 2020년 7월 개체수가 적었던 이유는 역대 최장 기간의 장마(기상청, 2020)로 채집이 어려웠기 때문인 것으로 보인다(Table 4).

채집방법 별 채집 현황

채집된 9,449마리의 참진드기 중 성충의 경우 Flagging & Dragging법으로 253마리(17%) 채집된 반면 CO₂ trap법으로 채집된 성충은 1,267마리(83%)이었다. 약충의 경우 Flagging & Dragging법으로 1,432마리(38%) 채집된 반면 CO₂ trap법으로 채집된 약충은 2,293마리(62%)이었다. 유충은 Flagging & Dragging법으로 1,853마리(44%)가 채집되었고 CO₂ trap법으로는 2,351마리(56%)가 채집되었다(Table 5).

결국 Flagging & Dragging법으로 채집한 참진드기는 모두 3,538마리(37%)이었으며 CO₂ trap법으로 채집한 참진드기는 모두 5,911마리(63%)로 CO₂ trap법으로 채집한 참진드기가 더 많았다.

참진드기의 병원체 감염실태 현황

SFTS 바이러스는 동구 지역 산책로에서 채집된 작

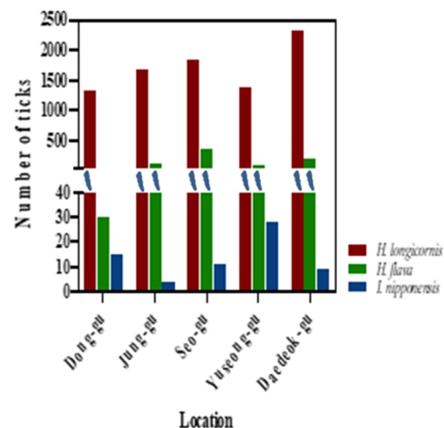


Fig. 2. Count of collected ticks by district.

Table 3. Monthly count of ticks by species and life stage

Species	*Life stage & gender	2020							Total
		Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	
<i>H. longicornis</i>	Adult (F)	97	284	335	234	64	1	-	1,015
	Adult (M)	34	101	159	63	9	-	1	367
	Nymph	975	1,647	626	84	107	142	3	3,584
	Larva	4	31	1	45	1,659	1,657	192	3,589
	Subtotal	1,110	2,063	1,121	426	1,839	1,800	196	8,555
<i>H. flava</i>	Adult (F)	3	9	3	-	5	8	26	54
	Adult (M)	8	4	-	1	7	10	22	52
	Nymph	22	30	4	-	23	21	21	121
	Larva	-	-	-	-	-	11	589	600
	Subtotal	33	43	7	1	35	50	658	827
<i>I. nipponensis</i>	Adult (F)	2	1	1	-	-	2	11	17
	Adult (M)	1	-	-	-	-	2	12	15
	Nymph	8	8	3	-	1	-	-	20
	Larva	-	-	15	-	-	-	-	15
	Subtotal	11	9	19	-	1	4	23	67
Total		1,154	2,115	1,147	427	1,875	1,854	877	9,449

*Adult (F), female hard ticks; Adult (M), male hard ticks; Nymph, the stage after larva in incomplete metamorphosis; Larva, the stage after egg.

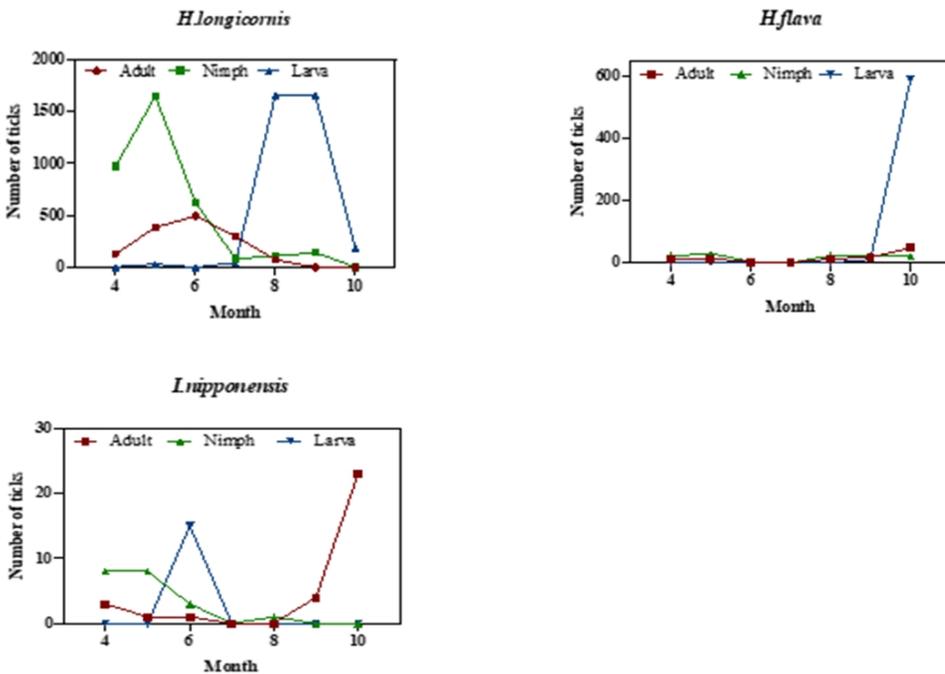


Fig. 3. Monthly count of ticks by life stage.

은소피참진드기에서 3건이 검출되었는데 1건은 4월에 CO₂ trap법으로 채집한 약충에서, 다른 2건은 5월에 같은 CO₂ trap법으로 채집한 성충에서 검출되었다. 결국 SFTSV는 총 9,449마리의 참진드기 pooling sample 651건 중 3건의 pool에서 검출되어 0.46%의 최소감염률(MIR)을 나타내었다.

Anaplasma spp.는 7월 중구 지역 산책로에서 Flag-

ging & Dragging법으로 채집된 작은소피참진드기 약충에서 1건이 검출되었으며 *Ehrlichia* spp.는 8월 중구 지역 산책로에서 CO₂ trap법으로 채집한 작은소피참진드기 성충에서 1건이 검출되었다. *Anaplasma* spp.와 *Ehrlichia* spp.는 651건의 pool 중 각각 1건씩 검출되어 0.15%의 최소감염률(MIR)을 나타내었다.

Borrelia spp.는 3건이 모두 유성구 지역 산책로에서

Table 4. July 2020 Daejeon regional weather

SUN	MON	TUE	WED	THU	FRI	SAT
			1	2	3	4
						
5	6	7	8	9	10	11
						
12	13	14	15	16	17	18
						
19	20	21	22	23	24	25
						
26	27	28	29	30	31	
						

검출되었는데 5월에 Flaggging & Dragging법으로 채집한 일본참진드기 성충에서 1건, 8월 CO₂ trap법으로 채집한 작은소피참진드기 약충에서 1건, 9월 CO₂ trap법으로 채집한 작은소피참진드기 유충에서 1건이 검출되었다. *Borrelia* spp.의 최소감염률(MIR)은 0.46%이었다.

Table 5. Number of collecting ticks by collection methods

Collection methods	No. of collecting ticks			Total
	Adult	Nymph	Larva	
Flgging & Dragging	253	1,432	1,853	3,538
CO ₂ trap	1,267	2,293	2,351	5,911
계	1,520	3,725	4,204	9,449

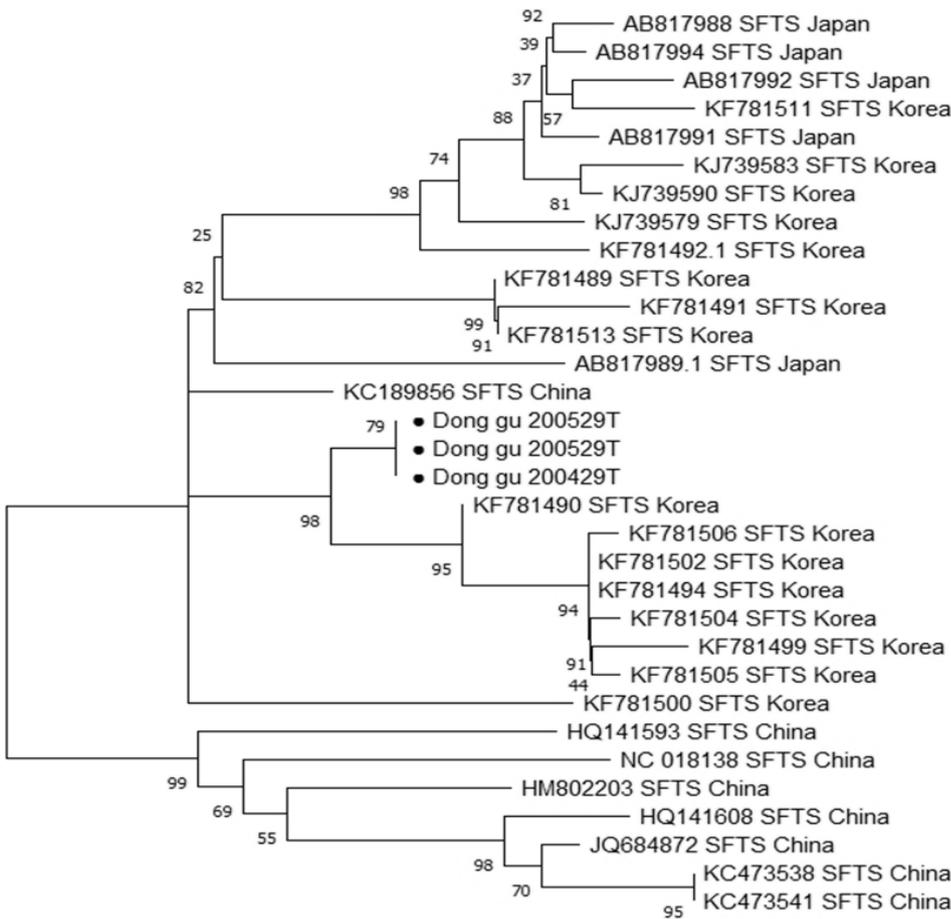


Fig. 4. Phylogenetic tree of SFTS virus based on 560 bp M segment gene sequence.

SFTSV의 염기서열 분석

검출된 3건의 SFTSV를 염기서열 분석 후 Genbank에 등록된 15개의 참조균주와 상동성을 비교 분석하였다. 동구 지역에서 검출된 3건의 SFTSV는 모두 같은 염기서열을 나타내었으며 Phylogenetic analysis를 진행한 결과 SFTSV 유전형 6가지 type 중 B type에 속하며 충북 청원군에서 검출되었던 KF781490 (SFTSV, Korea)와 99.9%의 상동성을 보였다. 이번에 검출된 동구 지역 SFTSV는 모두 이전에 국내에서 검출되었던 SFTSV와 모두 99.7~99.9%의 상동성을 보였다(Fig. 4).

Anaplasma spp., Ehrlichia spp.의 염기서열 분석

Anaplasma spp.가 검출된 검체 1건과 Ehrlichia spp.가 검출된 검체 1건에 대하여 염기서열을 분석하고 Genbank에 등록된 11개의 참조균주와 상동성을 비교 분석하였다. Anaplasma spp.와 Ehrlichia spp.는 유전학적으로 상동성이 매우 높아 함께 분석을 진행하였다. Phylogenetic analysis를 진행한 결과 중국에서 검출된 Jung_gu_200727D 검체는 중국에서 2011년에 검출된 JN990105 (China)와 99.0%의 상동성을 보였다. 그리고 중국에서 8월에 분리되었던 Jung_gu_200828T 검체는 미국에서 분리된 U96436 (U.S.A)와 98.9%의 상동성을 보였다(Fig. 5).

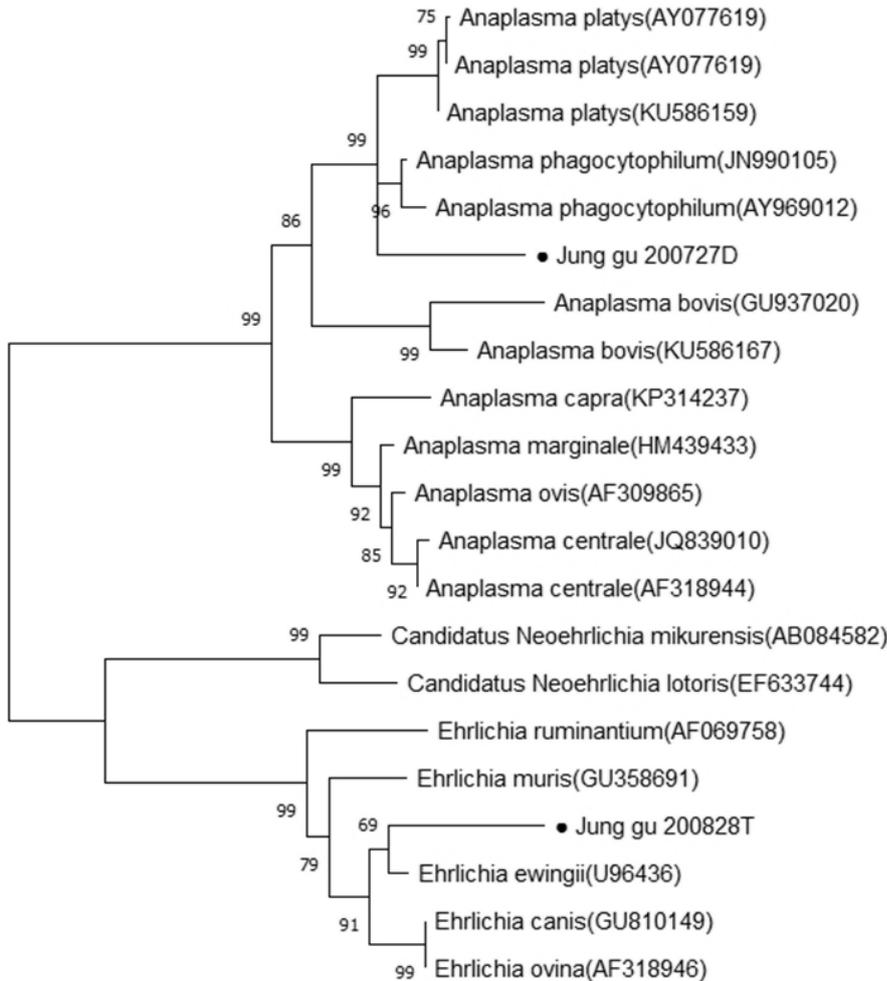


Fig. 5. Phylogenetic tree of *Anaplasma* spp. And *Ehrlichia* spp. Based on 1406 bp 16s rRNA gene sequence.

Borrelia spp.의 염기서열 분석

Borrelia spp.로 확인된 검체 3개를 염기서열 분석을 진행하여 Genbank에서 Blast를 진행하였는데 Phylogenetic analysis를 진행하기에는 sequencing 결과 특정 서열이 단일로 나오지 않아 상동성 분석은 하지 않았다. sequencing 결과가 단일로 나오지 않은 부분이 존재하는 이유는 유전자가 다른 *Borrelia* spp.와 혼합 감염되었기 때문인 것으로 보인다.

결 론

이번 연구는 대전지역의 주택가 인근 산책로에서 Flaggging & Dragging법 및 CO₂ 유인 트랩법으로 4월부터 10월까지 매월 1회 진드기 채집을 실시하였다. 참진드기는 모두 9,449마리가 채집되었으며 채집된 참진드기는 Yamagutsi 검색표에 따라 분류하여 총 세 종의 참진드기를 동정하였다. 참진드기를 종별, 성별, 성장 단계별로 동정하고 유전자를 추출하여 분자생물학적인 방법을 이용하여 4개 병원체(SFTS virus, *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Borrelia* spp.)를 분석하였다.

1. 채집된 참진드기는 모두 9,449마리였으며 5개 지구 모든 지역에서 작은소피참진드기가 82~96%의 비율로 가장 많이 채집되었다. 발육단계별로는 성충이 5월~7월경, 약충은 4월~6월경, 유충은 8월~10월에 78%~98%의 비율로 가장 많이 채집되었다.

2. 병원체 감염실태 결과는 SFTS 바이러스가 3건이 검출되어 0.46%의 최소감염률(MIR)을 나타내었고 *Anaplasma* spp.와 *Ehrlichia* spp.는 각각 1건씩 검출되어 0.15%, *Borrelia* spp.는 3건이 검출되어 0.46%의 최소감염률(MIR)을 나타내었다.

3. SFTS 바이러스는 동구 지역에서 3건이 검출되었고 중구 지역에서 *Anaplasma* spp. 1건, *Ehrlichia* spp. 1건이 검출되었으며 *Borrelia* spp.는 3건 모두 유성구 지역에서 검출되었다.

4. 검출된 3건의 SFTS 바이러스는 모두 같은 염기서열을 나타내었으며 충북 청원군에서 검출된 KF781490 (SFTS, Korea)과 99.9%의 상동성을 보였으며 국내에서 검출된 다른 SFTSV와 99.7%~99.9%의 상동성을 나타내었다.

5. 검출된 *Anaplasma* spp. 1건은 중국에서 검출된 JN990105 (China)와 99.0%의 유전적 상동성을 나타내었다.

6. *Ehrlichia* spp. 1건은 미국에서 분리된 U96436 (U.S.A)와 98.9%의 유전적 상동성을 나타내었다.

7. *Borrelia* spp.로 확인된 3건의 검체는 sequencing 결과 특정 서열에서 혼합된 유전적 서열이 나타나 상동성 분석은 하지 않았다.

이번 연구로 대전지역 주택가 인근 산책로에 서식하는 참진드기의 분포현황 및 병원체 감염 현황을 분석하여 참진드기 매개 인수공통전염병 예방 홍보에 기초 자료로 활용하고 사람과 동물의 진드기 매개 인수공통전염병 발생률을 낮추는 데 기여하고자 한다.

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

ORCID

So-young Han, <https://orcid.org/0000-0003-1668-4104>
Sun-hye Sung, <https://orcid.org/0000-0002-0086-9019>
Jin-woo Seo, <https://orcid.org/0000-0002-7946-6713>
Jong-ho Kim, <https://orcid.org/0000-0002-6085-0790>
Seok-ju Lee, <https://orcid.org/0000-0003-0566-4300>
Sang-sik Yoo, <https://orcid.org/0000-0003-2069-6861>

REFERENCES

- 국가기축방역통합시스템. 법정기축전염병 발생현황. Available from: <http://www.kahis.go.kr/home/lkntscrinfo/selectLkntsOccrmList.do>. Cited [2020.06.29].
- 기상청, 기상자료제공포털(<http://data.kma.go.kr>), 대전, 2020.
- 서재화, 임재원, 강동호, 김홍철. 질병 매개 참진드기류의 분류와 발생현황(I). 국립생물자원관. 2015.
- 질병관리본부, 감염병포털, 진드기 매개감염병 관리지침. 발간등록번호 11-3152159-000823-10, pp. 66-78
- Wodecka et al, 2007. Significance of red deer in the ecology of *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Wlad Parazytol* 53: 231-237.
- CDC, 2017. DPDx. <https://www.cdc.gov/dpdx/ticks/index.html> (accessed on 31 December, 2017).
- Chae JB, Kim TH, Jung JH, 2017. Prevalence of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus among ticks surveyed at Mt. Gwanak, Korea, *Korean J Vet* 57(3): 169-173.

- Chae MB, Lee JY, Kwak YG, Park SH, Lim HJ, Park SW, Chung MH, Kim MK, Kang JS, 2002. Prevalence of antibodies to *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* in Korean patients with Lymphadenopathy. *Korean J Infect Dis* 34(5): 305-310.
- Chong ST, Kim HC, Lee IY, Kollars TM Jr, Sancho AR, Sames WJ, Chae JS, Klein TA, 2013. Seasonal distribution of ticks in four habitats near the demilitarized zone, Gyeong gi-do(Province). Republic of Korea, *J Parasitol* 51: 319-325.
- Gai ZT, Zhang Y, Liang MF, Jin C, Zhang S, Zhu CB, Bian PF, 2012. Clinical progress and risk factors for death in severe fever with thrombocytopenia syndrome patients. *J Infect Dis* 206: 1095-1102.
- Han SY, Lee SJ, Joung EY, Choi KS, Woo IS, Kim JH, Yoo SS, 2020. Investigation into Prevalence of zoonotic infections of companion animals in Daejeon, The report of Daejeon Institute of Health and Environment.
- Hwang C.Y., 2011. Ehrlichia and Borrelia spp. Infection in German shepherded Dogs in Korea, *J Vet Clin* 28(2): 204-211.
- Ismail N, Bloch KC, McBride JW. 2010. Human Ehrlichiosis and An aplasmosis. *Clin Lab Med* 30: 261-292.
- Kang JG, Kim HC, 2013. Molecular detection of Anaplasma, Bartonella, and Borrelia species in Ticks collected from migratory birds from Hong-do island, Republic of Korea, *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 13: 1-11.
- KCDC, 2014. Survey on anaplasmosis and ehrlichiosis from SFTS suspicious patients in South Korea. *Public Health Weekly Report, Korea Centers for Disease Control and Prevention (KCDC)* 7: 979-982.
- KCDC, Disease Web Statistics System. Korea Centers for Disease Control and Prevention (KCDC), 2020, <https://www.cdc.go.kr/npt/biz/npp/nppMain.do/> (accessed 29 June 2020).
- Kim CM, Kim JK, Yi YH, Lee MJ, Cho MR, Devendra H, Terry A. Klein, Kim HC, Song JW, Chong ST, Monica L. O'Guinn, 2005. Detection of Bartonella species from ticks, mites and small mammals in Korea. *J Vet Sci* 6(4): 327-334.
- Kim HC, Han SH, Chong ST, Klein TA, Choi CY, Nam HY, Chae HY, Lee H, 2011. Ticks collected from Selected Mammalian Hosts surveyed in the Republic of Korea during 2008-2009. 2011. *Korean J Parasitol* 49: 331-335.
- Kim JB, Song HW, Park SU, Park SW, Ahn JH, Eom YB, Kim YM, 1998. Detection of Borrelia burgdorferi and Ehrlichiosis agent in ticks collected in Korea using polymerase chain reaction. *Korean J Biomed* 4(2): 113-120.
- Kim KH, Oh MD, 2014. Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome. *Korean journal of Medicine* 86: 271-274.
- Kim KH, Yi J, Kim G. et al, 2012. Severe fever with thrombocytopenia syndrome. South Korea. *Emerg Infect Dis* 19: 1892-1894.
- Kim KH, Yi J, Oh WS, Kim NH, Choi SJ, Choe PG, Kim NJ, Lee JK, Oh MD. 2014. Human graulocytic anaplasmosis, South Korea, *Emerg Infec Dis* 20: 1708-1711.
- Lee SO, Na DK, Kim CM, Lee YH, Cho YH, Park JH, Lee JH, Eo SK, Terry A. Klein, Chae JS, 2005. Identification and prevalence of Ehrlichia chaffeensis infection in Haemaphysalis longicornis ticks from Korea by PCR, sequencing and phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene. *J Vet Sci* 6(2): 151-155.
- Moon S, Gwack J, Hwang KJ, Kwon D, Kim S, Noh Y, Roh J, Shin E-h, Jeong K, Seok W, 2013. Autochthonous lyme borreliosis in humans and ticks in Korea. *Osong Public Health Res Perspect* 4: 52-56.
- Noh BE, 2019. Geographical distribution and relative abundance of hard ticks in the Republic of Korea. Graduate School, Kosin University, doctoral dissertation. <http://www.riss.kr/link?id=T15342418> (accessed 29 June 2020)
- Noh KW, Kim YJ, Ryu NS, Park JH, Kim YR, Na MS, 2017. Molecular detection for tick-borne pathogens in hard ticks collected in Jeollabukdo. 2017. The report of Jeollabukdo Animal health Division.
- Picken RN, Strle F, Picken MM, Ruzic-Sabljic E, Maraspin V, Lotric-Furlan S, Cimperman J., 1998. Identification of three species of Borrelia burgdorferi sensu lato (B. burgdorferi sensu stricto, B. garinii, and B. afzelii) among isolates from acrodermatitis chronica atrophicans lesions. *J Invest Dermatol* 110: 211-214.
- Qin XR, Han FJ, Luo LM, et al. 2018. Anaplasma species detected in Haemaphysalis longicornis tick from China. *Tick and Tick-borne Disease* 9: 840-843.
- Sachar DS. 2000. Ehrlichia chaffeensis infection in an active duty soldier stationed in Korea. *Medical Surveillance Monthly Report* 6: 9-11.
- Shin S. 2013. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. *J Korean Vet Med Assoc* 49: 359-364.
- Shinje Moon, Jin Gwack, Kyu Jam Hwang, Donghyuk Kwon, Suyeon Kim, Yoonatae Noh, Jongyul Roh, E-hyun Shin, Kungjin Jeong, Wonseok seok, Seung-Ki Youn, 2013. Autochthonous Lyme Borreliosis in Humans and Ticks in Korea. *Osong Public Health Res Perspect* 4(1): 52-56.
- Steere AC. 1989. Lyme disease. *N. Engl. J. Med.* 321: 586-596.
- Suh JH, Lim JW, Kang DH, Kim HC. 2015. Taxonomy and Occurrences of Disease Mediating Ticks. NIBR NO. 201501110.
- Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, Ishido A, Shigeoka T, Tominaga T, 2014. The first identification and retrospective study of severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan. *J Infect Dis* 209: 816-827.
- Yu XJ, Liang MF, Zhang SY, 2011. Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China. *N Engl J Med* 364: 1523-1532.
- Yun SM, Lee YJ, Choi WY, Kim HC, Chong ST, Chang KS, Jordan M. Coburn, Terry A. Klein, Lee WJ, 2016. Molecular detection of severe fever with thrombocytopenia syndrome and tick-borne encephalitis viruses in ixodid ticks collected from vegetation. *Ticks and Tick-borne Diseases* 7: 970-978.