

아나플라즈마病에 관한 研究

第Ⅱ報 韓牛에서 *Anaplasma centrale* 分離

全 永

農村振興廳 家畜衛生研究所

緒 論

아나플라즈마病은 Rickettsia 에 속하는 *Anaplasma* 病原體를 吸血昆蟲들이 소에게 接種시켜서 發生하는 症狀이며 病原體는 赤血球內에 寄生하여 貧血, 黃疸 등의 主症狀을 同伴한다.¹⁾

아나플라즈마 病原體 中에는 病原성이 높은 *Anaplasma marginale* 와 病原성이 弱한 *Anaplasma centrale* 種類가 있음이 알려져 있다.²⁾

우리 나라에서는 1957년부터 數年間 本病의 分布 與否를 究明하기 爲하여 濟州道의 畜牛를 對象으로³⁻⁷⁾ 血液塗抹標本을 檢査한 결과 *Anaplasma body*(以下 Ana-body 로 약칭)를 發見하여 李⁴⁾ 등은 이들의 可檢血清을 Hawaii 에 依賴하였던 일이 있었다. 그러나 補體 結合反應試驗에서 약간은 抗體를 保有하고 있었다고 하였다. 그리고 李 및 申⁵⁾, 李 및 鄭⁶⁾ 그리고 李⁷⁾는 血液塗抹標本檢査에 依하여 *A. marginale* 의 感染과 感染率을 報告하였으나 李⁴⁾는 信憑성이 없다고 지적하였다. 그러나 全 및 韓⁸⁾은 그 후에 韓牛 및 乳牛에 對한 血清學的試驗에서 10.8%의 抗體保有率과 抗體保有 韓牛의 血液을 實驗感染시킨 소에서 Ana-body 를 分離한 바 있다.

本 試驗은 1968년에 全 및 韓⁸⁾이 實驗感染試驗에서 아나플라즈마病原體를 分離 保存한 血液塗抹標本과 1976년에 日本에서 導入한 既知의 *A. marginale* 人工感染牛의 血液塗抹標本을 比較 試驗하여 얻은 成績이다.

材料 및 方法

供試 아나플라즈마株 : *A. marginale* (Kochinda strain)는 1976年 8월에 日本 農林省 家畜衛生試驗場

九州支場 石原로 부터 感染血液을 分讓받은 株이다. 그리고 韓牛 아나플라즈마株는 1968年 11월에 서울 馬場洞 屠畜場의 韓牛를 對象으로 血清을 分離하여 美國다 이아몬드 研究所의 毛細管內凝集反應試驗(Ana-test)에 供試하여 陽性 및 疑陽性反應을 얻은 韓牛의 血液이다

接種材料 : *A. marginale* 의 材料는 約 45% 感染血液에 DMSO 를 10% 處理하여 -60°C 에 3個月間 凍結保存한 것이며 韓牛 아나플라즈마는 血清學的試驗에 反應된 韓牛의 血液에 heparin 을 處理하고 5°C 의 冷藏庫에 2日間 保存한 것을 供試하였다.

供試動物 : 實驗感染試驗에서 Ana-body 를 分離觀察할 目的으로 *A. marginale* 株는 約 12月齡 韓牛에 그리고 韓牛 아나플라즈마株는 約 12月齡 乳牛에 供試하였다.

接種方法 : *A. marginale* 는 約 45% 感染血液을 韓牛(758號牛)에 5 ml 을 皮上接種하였다. 韓牛아나플라즈마는 陽性反應된 韓牛 4頭의 血液을 混合하여 681號의 乳牛에 50 ml 를 靜脈內接種하였고 疑陽性反應을 보인 韓牛 2頭의 血液을 混合하여 乳牛(682號)에 60 ml 를 靜脈內注射하였다.

아나플라즈마 病原體의 檢査法 : 아나플라즈마感染血液을 接種한 소로 부터 5~10日間隔으로 耳靜脈에서 採血하여 薄層血液塗抹標本을 만들어 Giemsa 染色을 하고 光學顯微鏡으로 100視野를 檢査하여 赤血球內의 Ana-body 를 確認하고 그 寄生部位別로 數를 計算하였다.

結 果

우리 나라에서 아나플라즈마 感染牛를 檢査하기 爲하여 서울에 있는 屠畜場 韓牛를 對象으로 血清學的試驗을 實施한 結果 表 I 에서와 같이 53頭의 韓牛에서 4頭가 陽性이었고 2頭는 疑陽性이었으며 이들의 血液

을 各各 混合하여 實驗的 感染의 接種材料로 使用하였다.

Table 1. Results of Capillary Tube Agglutination Test on Serum Sample of Korean Cattle

No. of Sera Tested	Positive	Suspected	Negative
53	4 (7.5%)	2 (3.8%)	47 (88.7%)

實驗感染牛에서 Ana-body를 確認할 目的으로 頸靜脈에서 血液塗抹標本을 檢査한 結果 表 2에서와 같이 陽性韓牛의 血液을 接種한 681號 乳牛에서는 感染後 30日부터 Ana-body가 檢出되었으며 45~50日에는 多少 많이 出現한 후 점차 消失하였다. 疑陽性韓牛의 血液을 接種한 682號 乳牛에서는 40日부터 Ana-body가 檢出되었고 45~55日에는 多少 많이 出現한 후 차츰 減

少하였다. 한편 *A. marginale* 感染血液을 接種시킨 758號 韓牛에서는 感染後 10日부터 Ana-body가 檢出되었으며 30日에는 出現數가 많았으나 以後 차차 減少하기 始作하였다.

實驗感染牛에서 檢出된 Ana-body는 圓形 또는 橢圓形이었으며 크기는 0.54~0.68 μm 였다. Giemsa 染色된 Ana-body는 暗赤色, 暗紫色으로도 보였고 均一하게 染色되어 均一하게 나타났으며 Ana小體 周圍의 赤血球部分은 脫色되어 더욱 뚜렷하게 보였다. 한편 日本의 *A. marginale*小體도 韓牛나나골라즈다와 顯著한 差異가 없었다.

Ana-body가 赤血球內에 寄生한 部位는 그림 1에서와 같이 4型으로 大別할 수 있었으며 邊緣部 寄生型은 I型과 II型 그리고 中央部 寄生型은 III型和 IV型으로 分類할 수 있었다.

赤血球內 寄生部位別 Ana-body의 出現率은 表 2에

Table 2. Classification of type according to parasitized site of Anaplasma body in erythrocytes

Cattle No.	Strain	Type	Days after Inoculation																Total	Per cent			
			0	5	10	15	20	25	30	40	45	50	55	65	70	75	90	100			101		
681	Korean Strain	Marginal	I	0	0	0	0	0	·	1*	0	0	0	·	2	·	1	0	·	0	16	21.6	
			II	0	0	0	0	0	·	1	1	4	2	·	1	·	3	0	·	0			
		Central	III	0	0	0	0	0	·	3	1	9	5	·	2	·	4	0	·	0	58	78.4	
			IV	0	0	0	0	0	·	1	8	9	10	·	4	·	2	0	·	0			
682	Korean Strain	Marginal	I	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	·	3	0	·	0	#	0	·	65	30.0
			II	0	0	0	0	0	0	0	0	5	19	·	28	5	·	·	1	0	·		
		Central	III	0	0	0	0	0	0	0	0	8	43	·	42	6	·	·	2	0	·	151	70.0
			IV	0	0	·	0	0	0	0	0	11	23	·	22	2	·	·	0	0	·		
758	<i>Anaplasma marginale</i> (Kochinda) Strain	Marginal	I	0	0	0	·	·	82	292#	3	·	·	·	·	0	·	0	·	0	587	89.8	
			II	0	0	1	·	·	33	172	4	·	·	·	·	1	·	0	·	0			
		Central	III	0	0	1	·	·	16	26	1	·	·	·	·	1	·	0	·	0	67	10.2	
			IV	0	0	0	·	·	11	12	0	·	·	·	·	0	·	0	·	0			

·: Not tested

*: No. of Anaplasma body per one hundred fields

#: Treatment with terramycin

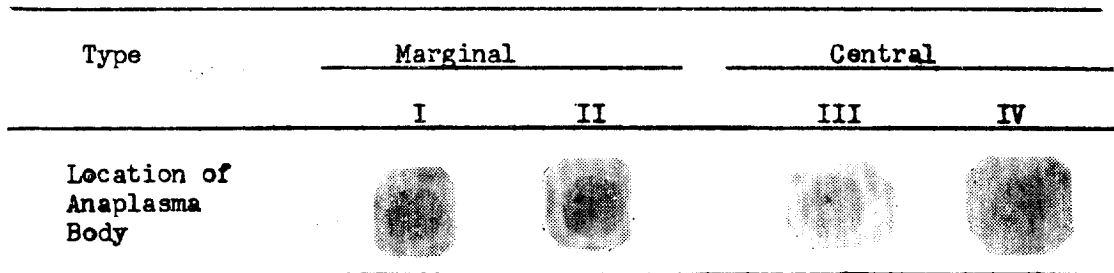


Fig. 1. Morphological observations of Anaplasma bodies in erythrocytes.

서와 같이 韓牛 아나플라즈마感染牛 681號와 682號에서는 中央部 寄生型이 70.0~78.4%로서 *A. centrale* 로 생각되고 *A. marginale* 를 接種시킨 758號 牛에서는 邊緣部 寄生型이 89.8%였으므로 *A. marginale* 라고 생각되었다.

考 察

우리 나라에서는 1957년부터 數年間 濟州道の 畜牛를 對象으로 *A. marginale* 調査成績을 報告한 바 있으나⁵⁻⁷⁾ 李⁴⁾는 血液塗抹標本에 依한 成績이므로 信憑性이 없다고 한 바와 같이 實驗感染牛에 對한 再確認 試驗과 種類同定에 對한 分類成績이 없으므로 著者도 같은 見解를 갖고 있다.

本 病의 潛伏期間에 關하여 James²⁾는 11~14日이라고 하였으나 越智¹¹⁾는 *A. centrale* 에서 31日 정도이고 *A. marginale* 는 32日 정도라고 하였다. 本 試驗에서 韓牛 아나플라즈마는 30~40日의 潛伏期를 보인 것은 越智¹¹⁾의 成績과 거의 같았고 *A. marginale* 感染牛에서 10日의 潛伏期를 나타낸 것은 James²⁾의 成績과 같았다.

全 및 韓⁸⁾은 韓牛 아나플라즈마의 潛伏期間을 16~19日이라고 發表한 바 있으나 本 試驗에서 再檢査한 結果 30~40日이었으므로 여기서 訂正한다.

Ana-body의 形態에 關하여 Dalling 등¹⁾은 크기가 0.2~1.2 μm 의 圓形 또는 不規則한 圓形이라고 하고 Giemsa 와 Wright 染色에서 暗紫色으로 보인다고 하였다. 越智¹¹⁾는 크기가 0.3~0.9 μm 이고 赤紫色으로서 染色性이 均一하지 않다고 記述하였다. 本 試驗에서 Ana-body의 크기는 0.54~0.68 μm 였고 染色性은 赤紫色 또는 暗紫色으로서 均等하게 染色되어 靚淨하게 보였다.

아나플라즈마 種類에 對한 同定法에 關하여 石原^{9,10)}는 赤血球의 半徑을 三等分하고 Ana-body의 寄生部位別로 採點한 結果 *A. marginale* 는 3.4 以下이고 *A. centrale* 는 3.7 以上이라고 하였으나 越智¹¹⁾는 赤血球內의 邊緣에 80% 以上 寄生하면 *A. marginale* 라고 하였고 그 中央部에 80% 以上 寄生하면 *A. centrale* 라고 하였다. 本 試驗에서는 石原^{9,10)}의 分類法에 따라 I型和 II型을 *A. marginale* 그리고 III型和 IV型을 *A. centrale* 로 分類하고 越智¹¹⁾의 計算法에 依하여 同定하였던 바 韓牛 아나플라즈마 2株는 다같이 III型和 IV型이 70~78.4%였으므로 *A. centrale* 라고 생각되며 對照인 *A. marginale* (Kochinda strain)

에서는 I型和 II型이 89.8% 出現하였으므로 越智¹¹⁾의 計算法과 거의 一致된다고 思料되었다.

本 試驗에 依하여 韓牛에서 *A. centrale* 를 分離同定한 것은 우리 나라에서 처음으로 報告되는 바이며, 또한 앞으로 *A. marginale* 의 國內分布 與否를 正確히 調查하기 爲하여 于先 血液學的 診斷法의 確立이 要望된다.

A. centrale 는 一般의 病原性이 弱한 것으로 알려져 있으나 臨床所見에서¹¹⁾ 貧血과 黃疸症狀을 일으키므로 韓牛와 乳牛에 對한 臨床症狀, 媒介體究明 地域別 分布率에 關하여 細密한 調查가 있어야 할 것이다.

結 論

우리 나라의 韓牛에서 아나플라즈마를 分離하고 同定할 目的으로 毛細管內 凝集反應試驗에 依한 陽性과 疑陽性 韓牛의 血液을 乳牛에 接種하였던 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 實驗感染牛에 있어서 韓牛아나플라즈마는 感染後 30~40日부터 出現하였다.
2. 韓牛아나플라즈마가 赤血球內 寄生部位別 出現率은 中央部型이 70.0~78.4%였으므로 *Anaplasma centrale* 라고 생각된다.

謝 辭: 本 試驗을 爲하여 아나플라즈마病原體를 觀察하시고 指導하여 주신 徐明得 研究官, 金龍熙 博士, 韓台愚 博士, 李炳都 博士, 孫濟英 博士 그리고 W. T.K. Hall 博士께 眞心으로 感謝드립니다.

參 考 文 獻

1. Dalling, S.T., Alexander, R., Boddie, G.F. and Spruell, J.S.A.: International Encyclopedia of Veterinary Medicine. W. Green & Son, LTD. (1956) p. 53.
2. James, G.M.: The Prevention and Treatment of anaplasmosis. Annals of the New York Academy of Science. (1956) 64: 25.
3. Ristic, M.: A capillary tube-agglutination test for anaplasmosis. A preliminary report. J.A.V. M.A. (1962) 141: 588.
4. 李炳都: 아나플라즈마病(家畜防疫史). 大韓獸醫師會, (1967) 2: 24.
5. 李炳都, 申廷均: 소의 아나플라즈마病의 分布調査

- 試驗. 家畜衛生研究所 試驗研究事業報告書 (1959) p. 120.
6. 李炳都, 鄭柱祥: 濟州道 牛의 피로플라즈마病 및 아나플라즈마病的 分布調査試驗. 家畜衛生研究所 試驗研究事業報告書 (1958) p. 69.
7. 李聖杰: Anaplasma 의 臨床. 大韓獸醫學會學術發表 演題 (1958).
8. 全永, 韓台愚: 소의 아나플라즈마病에 關한 血清學的 分布調査. 農事試驗研究報告 (1969) 12(5):57.
9. 石原忠雄: アナプラズマ病 診斷基準. 家畜衛生週報 (1974) 1312: 304.
10. 石原忠雄: アナプラズマの種類. 農林省 家畜衛生試驗場年報 (1970) p. 224.
11. 越智南一: 最新家畜傳染病. 南江堂 東京, (1970) p. 341.

Isolation of *Anaplasma centrale* from Korean Cattle

Yeong Jeon, B.S., M.S.

Institute of Veterinary Research, Office of Rural Development

Abstract

In order to isolate and identify *Anaplasma* bodies, two dairy cattle were inoculated with the whole blood of Korean cattle reacted to capillary tube agglutination test (Ana-test).

The results obtained are as follows:

1. In the infected dairy cattle, *Anaplasma* bodies were first detected between 30 to 40 days post infection.
2. The isolates were identified as *Anaplasma centrale* on the basis of morphology of infected anaplasma bodies in erythrocytes.