

犬赤血球에 感染된 *Babesia gibsoni*의 微細構造에 관한 研究

한재철 · 이주복 · 채준석 · 윤창모*
전북대학교 수의과대학, 이리 농림고등학교*
(1990. 9. 13 접수)

Ultrastructure of *Babesia gibsoni* in the erythrocyte from dogs

Jae-Cheol Han, Joo-Muk, Lee, Joon-Seok Chae and Chang-Mo Yoon*

College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University

Iri Agricultural and Forestry High School*

(Received Sep. 13, 1990)

Abstract: For the ultrastructural observation on *Babesia gibsoni*(*B gibsoni*), the protozoa were challenged experimentally to splenotomized dog. To examine the ultrastructure of the *B gibsoni* in the erythrocyte, the infected erythrocytes were collected at the cephalic or jugular vein of the dog.

The results obtained by TEM(transmission electron microscopy) were as follows;

1. The sizes of protozoa in erythrocytes are $0.92 \pm 0.36 \mu\text{m} \times 0.67 \pm 0.21 \mu\text{m}$, the sizes of nucleus of the protozoa are $0.55 \pm 0.24 \mu\text{m} \times 0.38 \pm 0.26 \mu\text{m}$, and sizes of rhoptries in plasma of the protozoa are $0.33 \pm 0.05 \mu\text{m} \times 0.25 \pm 0.07 \mu\text{m}$, respectively.
2. The trophozoite membrane in the erythrocyte was one, and it's nuclear membrane was made up of double. But the protozoa of initial stage in infected erythrocyte had double clear membranes, and distinguished from plasma membrane of red blood cell.
3. The mitochondriallike structures covered with two membranes were observed in the protozoa.
4. Mitochondria and vesicles of the reticulocyte were observed near protozoa in the erythrocyte.
5. There are rhoptry, coiled structure and single nucleous in the merozoite.
6. The shape of rhoptry was round or ovoid form and in occasionally, the content of rhoptry was lost partially.
7. There was able to observe the dividing process of the protozoa.
8. Maurer's cleft-like structure was observed.

緒 論

개의 住血原蟲인 *Babesia gibsoni*(*B gibsoni*)는 진드기에 의해서 媒介되는 것으로 알려져 있으며 *Babesia* spp. 중 小型原蟲으로서 赤血球內에서 1개 또는 2개 이상의 여러가지 形態¹⁻⁴로 寄生하면서 宿主에 다양한 臨床症狀을 나타내는 原蟲이다.⁵⁻²²

이 住血原蟲에 관하여는 다양한 研究와 調査²³⁻³⁰가 이루어지고 있기는 하나 아직 微細構造나 免疫 그리고

感染에 대한 豫防方法등에 관하여는 완전히 밝혀지지 않은 실정이다. *B gibsoni*의 微細構造에 관한 研究는 Mimori 등³이 感染犬의 脾臟과 肝 그리고 骨髓에 있는 赤血球內에서 原蟲의 増殖過程을 糾明하기 위한 研究를 실시하였으며, Namikawa 등⁴은 脾臟摘出犬에 *B gibsoni*를 人工感染시켜서 말초혈액의 赤血球內에 感染된 原蟲을 光學顯微鏡과 電子顯微鏡으로 觀察하였으나 아직 이 원충의 미세구조에 관한 研究는 충분하지 못할 뿐만 아니라 세계적으로도 매우 稀貴한 편

이다.

우리나라에서는 현재 이 질병이 계속해서 발생⁵⁻⁸하고 있음에도 불구하고 이에 관한 연구가 활발하게 이루어지지 않고 있는 실정이며, 특히 *B gibsoni*의 미세구조에 관한 연구는 찾아 볼 수가 없었다. 따라서 본 실험에서는透過電子顯微鏡(transmission electron microscope: TEM)을 이용하여 개의 적혈구에 감염된 *B gibsoni*에 관한形態學的 미세구조를 밝히 보고자 하였다.

材料 및 方法

1. 實驗動物

實驗動物은 체중 약 10kg인 3년생 잠종견(A)과 체중 8kg인 7개월령의 잠종견(B) 및 체중 6kg인 5개월령의 잠종견(C)으로서 臨牀檢査 및 血液檢査 결과 건강하다고 판단되는 것을 사용하였다. 이 실험동물들은 실험 2개월 전에 内部寄生蟲을 2회 구제하였고, canine distemper, canine parvovirus, infectious canine hepatitis 그리고 leptospirosis에 대한 예방접종을 실시하였다.

2. *Babesia* 原蟲

*B gibsoni*의 원충은 全北 鎭安地方에서 자연감염된 개로부터 採取하여 사용하였다. 이 原蟲은 실험실에서 사육하는 잠종견(A)에 접종하여 계대하였고, 계대된 원충은 脾臟摘出犬(B)에 인공감염시켜서 원충을 증식시켰다.

3. 原蟲增殖

5개월령의 건강한 개(C)를 脾臟摘出하여 수술부위가 완전히 치료된 후(4주) 感染率 1%인 血液(*B gibsoni* 感染赤血球: 10^9 개)을 上腕靜脈에 접종하였다. 접종 후 5일간 dexamethasone 0.1mg/kg을 피하주사하고, 스트레스(극심한 운동)를 가하여 원충을 增殖시켜서 실험에 사용하였다. 이 때의 실험에 사용한 血液의 *B gibsoni* 感染率은 54%이었다.

4. Giemsa 染色

*B gibsoni*를 감염시킨 비장적출견의 頸靜脈에서 채취한 血液은 즉시 slide에 塗抹하여 methanol로 固定하고 Giemsa染色을 실시하여 光學顯微鏡을 통하여 관찰하였다.

5. Block 製作

B gibsoni 原蟲의 미세구조를 관찰하기 위한 電子顯微鏡의 표본제작은 Kawai S. 등³¹⁾의 방법을 약간 변형시켜 사용하였다. 즉 *B gibsoni*를 감염시킨 脾臟摘出犬의 頸靜脈에서 채취한 혈액은 300g에서 5분간 원심하여 赤血球만을 모았다. 이 적혈구는 PBS(pH7.2)

로 洗滌한 후 1.25% glutaraldehyde(0.1M cacodylate buffer, pH7.2)로 1次 前固定하였다. 그 후 10% bovine serum albumin과 섞어서 細胞를 정착시킨 후 5% glutaraldehyde(0.1% cacodylate buffer, pH7.2)로 2次 前固定을 실시하였다.

後固定은 1% OsO₄(0.1M cacodylate buffer, pH7.2)로 4°C에서 2시간 실시하였다. 고정된 시료는 ethanol 시리즈(50~100%)를 통하여 脫水시켰으며, 100% ethanol에서는 통과만 시킨 후, 100% acetone에 10분씩 3회 반복 침지시켜서 최종 脫水를 실시하였다. 그 후 propylene oxide에 10분씩 3회 반복침지 시켜서 置換되도록 하였다.

포메는 epoxy樹脂(Epon 812, EMS)혼합액과 치환제인 propylene oxide를 1:1로 섞어 실온에서 2시간동안 침투시킨 후 순수한 epoxy수지 혼합액으로 交換하고 60°C에서 3일동안 치환하여 epoxy수지를 重合시켰다. Epoxy 블록을 분리시켜서 ultramicrotome을 이용하여 超薄切片을 만들었다.

염색은 uranyl acetate와 lead citrate로 二重染色하였으며, 원충의 미세구조는 電子顯微鏡을 이용하여 관찰하였다.

結 果

實驗的 感染犬의 血液 塗抹標本을 Giemsa 染色하여 鏡檢한 결과 Fig 10에서와 같이 *B gibsoni*로 생각되는 原蟲을 발견할 수 있었으며, 이 시료를 透過 電子顯微鏡으로 관찰하였다. 그 결과 Fig 1에서 보는바와 같이 적혈구내의 原蟲을 확인하였으며, 原蟲 주위에 수개의 球形 또는 卵圓形의 위족과 網狀赤血球의 綠立體등을 관찰할 수 있었다.

Fig 2에서는 赤血球의 중앙에 위치한 protozoa 주위에서 偽足의 발생을 볼 수 있었으며, Fig 2를 확대한 Fig 3에서의 分裂小體는 1층의 原形質膜으로 덮여 있었고, 그 내부의 核은 二重膜으로 싸여 있었으며 電子조밀한 構造를 가진 rhoptry도 관찰할 수 있었다. 또한 coiled structure와 絲立體樣 構造 등을 관찰할 수 있었다.

Fig 4에서는 trophozoite 주위에 크고 작은 偽足이 존재함을 확인할 수 있었다.

Fig 5에서 보는 바와 같이 rhoptry는 내용물이 漏出되어 부분적으로 退色되어 있는 것을 볼 수 있었으며, 몇개의 micronemes도 관찰할 수 있었다. 또 이 사진에서는 赤血球內의 原蟲이 赤血球膜과 附着되어 있는 부위에서 원충막과 赤血球膜이 선명하게 구분되지 않았다.

Fig 6에서는 赤血球內에 침입한 原蟲의 膜과 赤血球 膜과의 사이에는 寄生蟲에 의한 空胞(parasitophorous vacuole)가 형성되어 있는 모습을 관찰할 수 있었다. 또한 coiled organelle과 micronemes, mitochondrial-like structure, pseudopod, spheroid body 등을 관찰할 수 있었다.

Fig 7과 Fig 8에서는 赤血球內에서 原蟲이 二分法에 유사한 分裂을 하는 모습을 볼 수 있었다.

Fig 9에서는 赤血球內에 Maurer's cleft樣 構造를 관찰할 수 있었다.

原蟲의 크기는 $0.92 \pm 0.36 \mu\text{m} \times 0.67 \pm 0.21 \mu\text{m}$ 이었으며, 原蟲內 核의 크기는 $0.55 \pm 0.24 \mu\text{m} \times 0.38 \pm 0.26 \mu\text{m}$, rhoptry는 크기가 $0.33 \pm 0.05 \mu\text{m} \times 0.25 \pm 0.07 \mu\text{m}$ 이었다.

考 察

개에 감염되는 *B gibsoni*의 形態學的인 研究에서 Fowler 등²⁾은 광학현미경으로 5가지 형태 즉, young ring form, signet ring form, band or rod form, paired pyriform 그리고 multiple form으로 구분하였다. 그러나 Namikawa 등⁴⁾은 6가지 형태 즉, ring form($2.71 \pm 0.55 \mu\text{m} \times 1.61 \pm 0.51 \mu\text{m}$), paired pyriform ($2.10 \pm 0.47 \mu\text{m} \times 0.94 \pm 0.25 \mu\text{m}$), petaloid form($2.42 \pm 0.25 \mu\text{m} \times 0.92 \pm 0.22 \mu\text{m}$), amoeboid form(3.79 (range $2.46 \sim 7.24$) $\mu\text{m} \times 2.66 \pm 0.79 \mu\text{m}$), dot form($0.83 \pm 0.14 \mu\text{m} \times 0.64 \pm 0.13 \mu\text{m}$) 그리고 comma form(1.69 (range $0.97 \sim 3.54$) $\mu\text{m} \times 0.53 \pm 0.16 \mu\text{m}$) 등 6가지로 형태를 분류하고 있다. 투과 전자현미경으로 관찰한 본 실험에서 原蟲의 크기를 이들의 보고와 비교해 보면 Namikawa 등⁴⁾이 주장한 dot form과 비슷한 크기를 나타내고 있었다.

Ruzinska³²⁾는 *Babesia*의 分열소체는 작은 卵圓形이며 그 微細構造는 다른 sporozoa의 構造와 매우 유사하다고 하였다. Fig 1에서는 한개의 赤血球內에 2개의 난원형 내지 원형의 分裂小體가 보이며 그 分열소체 주변에는 偽足이 관찰되고 있다. 또한 分열소체가 들어 있는 적혈구는 絲立體가 산재되어 있는 것으로 보아 이 적혈구는 망상적혈구로 생각되며 이 적혈구의 여러 곳에는 많은 小胞들이 관찰되어지고 있다.

Namikawa 등⁴⁾은 *Babesia* 原蟲을 電子顯微鏡으로 관찰한 경우 다수의 리보솜, 한 개의 核, rhoptry 그리고 거친 표면을 가진 한개의 內形質 細網로 이루어져 있다고 하였으나 사진상으로는 매우 애매하였다. 본 실험에서는 Fig 2와 Fig 3에서와 같이 核, rhoptry, 偽足, 絲立體樣 構造, micronemes, 그리고 coiled

structure 등을 관찰할 수 있었다.

Ruzinska³²⁾에 의하면 rhoptry는 圓形, 물방울형, 서양배형 그리고 확장된 管의 구조를 하고 있다고 보고하고 있다. 본 실험에서는 Fig 4에서 보는 바와 같이 주로 卵圓形의 형태를 나타냈으며 rhoptry의 내용물이 漏出되어서 염색밀도가 낮게 나타난 경우도 관찰할 수 있었다. 즉 Fig 3의 rhoptry와 Fig 5의 rhoptry를 비교해 보면 Fig 5의 rhoptry는 내용물의 密度가 부분적으로 낮음을 알 수 있다. Ruzinska³²⁾에 의하면 rhoptry는 原蟲이 赤血球內로 侵入할때 漏出되어서 제일 먼저 消失된다고 한다.

Mimori 등³⁾에 의하면 脾臟, 肝 그리고 骨髓로 부터 채취한 赤血球와 赤血球芽細胞에서 *B gibsoni*의 二分裂(2n)期를 관찰하였다고 보고하였다. Namikawa 등⁴⁾은 이 단계가 paired pyriform과 일치한다고 하였다. 그러나 Ruzinska³²⁾는 *Babesia* spp에서 分裂小體의 分裂은 發芽(budding)로서 이루어진다고 보고하고 있다. 透過 電子顯微鏡으로 관찰한 본 실험에서는 Fig 7과 Fig 8에서와 같이 原蟲이 二分裂(2n)을 하는 듯한 형태를 나타내고는 있으나 양측 세포의 크기와 그 부속기관들을 비교할 때 발아(budding)에 의한 분열가능성이 더 크다고 생각된다.

Mimori 등³⁾은 二分裂期 상태에 있는 *B gibsoni*의 原蟲을 담고있는 赤血球는 주로 脾臟에서 볼 수 있었으며 또한 肝과 骨髓에서도 볼 수 있었다고 하였다. 이 장기들은 造血作用에 의해 어린 赤血球를 生産하고 貯藏하는 기능이 있다. 본 실험에서 *B gibsoni*에 감염된 적혈구에는 絲立體가 산재한 것으로 보아 망상적혈구로 생각되며 *B gibsoni*는 주로 어린 적혈구에 감염되는 경향을 나타내고 있음을 알 수 있었으며 이것은 Mimori 등³⁾의 보고와 일치하는 소견이라 하겠다.

Ruzinska³²⁾에 의하면 *Babesia*의 核은 매우 크며 二重膜으로 되어있고, 核物質은 均質이며 濃도가 낮다고 하였다. 핵은 종종 原蟲의 거의 전부를 차지하기도 하였다고 보고하였다. 본 실험에서도 Fig 3과 Fig 4에서와 같이 핵은 이중막으로 되어 있으며 核物質은 균질하게 염색되어 있었고 그 크기가 비교적 큰편이었다.

Ruzinska³²⁾에 의하면 核은 어린 상태에서는 卵圓形이지만 成熟하면서 不定形이 되며 시간이 더욱 경과하면 核은 分葉狀을 나타낸다고 하였다. 본 실험에서의 核은 주로 부정한 圓形에 가까우면서도 馬蹄狀과 같은 모양을 하고 있었다.

Mimori 등³⁾의 보고에 의하면 *Babesia* 原蟲은 原形質 外膜이 명확하지 않았으며 絲立體樣 構造 또는 空胞를

이따금 단고 있었다고 하였다. 그들은 그러한 현상을 *B gibsoni*의 原蟲이 未成熟한 상태로 설명하였다. 본 실험에서는 Fig 6에서와 같이 원충에 의해 형성된 세포와 2중막의 分割등이 매우 鮮明하게 나타나 있다.

Fig 5에서 絲立體樣 構造는 2중의 膜으로 구성되어 있었으며 한개의 protozoa내에 1~2개가 함유되어 있었다. 또한 赤血球內에서 原蟲이 赤血球膜과 밀착된 경우 原蟲의 原形質膜과 赤血球膜이 鮮明하게 구분되지 않은 부분을 관찰할 수 있었다(←표 부위).

Ruzinska²²에 의하던 감염적혈구내에는 Maurer's cleft가 보이는 경우가 있는데 이것은 원충이 적혈구를 부분적으로 소화하는 과정이라고 하였다. 본 실험에서도 역시 Fig 9에서 보는 바와 같이 Maurer's cleft가 나타나며 그 주위에 적혈구가 소화된 내용물로 생각되는 물질이 보인다.

본 실험은 循環血液中的의 감염적혈구를 채취하여 실시한 基礎 實驗이며 보다 자세한 研究와 더 확실한 微細構造를 관찰하기 위해서는 좀더 철저한 연속절편의 사진이 필요하다고 생각된다.

結 論

*B gibsoni*의 形態를 전자현미경적으로 관찰하기 위하여 脾臟適出犬에 *B gibsoni*를 人工接種시킨 후 循

環血液중에 있는 赤血球를 모아 感染赤血球內의 *B gibsoni*를 透過 電子顯微鏡으로 관찰하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 赤血球內에 있는 原蟲의 크기는 $0.92 \pm 0.36 \mu\text{m} \times 0.67 \pm 0.21 \mu\text{m}$ 이었고, 原蟲內核의 크기는 $0.55 \pm 0.24 \mu\text{m} \times 0.38 \pm 0.26 \mu\text{m}$ 이었으며, rhoptry의 크기는 $0.33 \pm 0.05 \mu\text{m} \times 0.25 \pm 0.07 \mu\text{m}$ 이었다.

2. 赤血球內에 들어있는 原蟲은 한층의 막으로 구성되어 있었으며, 核膜은 二重膜으로 되어있고, rhoptry는 電子密度가 높은 構造를 가지고 있었다. 그러나 적혈구내에 침입한 초기의 원충은 뚜렷한 2중막과 적혈구막이 구분되었다.

3. 赤血球內의 絲立體樣 構造는 卵圓形 二重膜으로 덮여있는 것이 관찰되었다.

4. 原蟲이 존재하는 網狀赤血球에서는 다수의 絲立體와 小胞體들이 관찰되었다.

5. 原蟲은 單核, rhoptry, 그리고 coiled structure 등으로 구성되어 있었다.

6. Rhoptry는 圓形 또는 卵圓形의 形態를 하고 있었다.

7. 赤血球內에서 原蟲이 分裂하고 있는 形態를 관찰할 수 있었다.

8. Maurer's cleft樣 構造도 관찰할 수 있었다.

Legends for figures

Fig 1. Electron micrograph of *Babesia gibsoni* merozoite in a canine erythrocyte. $\times 15,000$

B: *Babesia gibsoni* M: mitochondria PS: pseudopod V: vesicle

Fig 2. Electron micrograph of *Babesia gibsoni* trophozoite in a canine erythrocyte. $\times 22,500$

B: *Babesia gibsoni* PS: pseudopod

Fig 3. The parasite containing a prominently large nucleus(N), rhoptry(R), pseudopod(PS), mitochondrial-like structure(M), microneme(MI) and coiled structure(C). $\times 60,000$

Fig 4. Trophozoite with numerous pseudopod(PS). $\times 45,000$

MI: microneme N: nucleus

Fig 5. The merozoite faces in the membrane of the host cell end. The plasma membranes of the parasite and of the erythrocyte were not distinguished(arrow). $\times 45,000$

M: mitochondrial-like structure MI: microneme N: nucleus R: rhoptry

Fig 6. Merozoite entered into the erythrocyte. $\times 45,000$

DM: double membranes of merozoite HM: host plasma membrane N: nucleus
R: rhoptry V: parasitophorous vacuole

Fig 7. Dividing process of the parasite. $\times 37,500$

N: nucleus

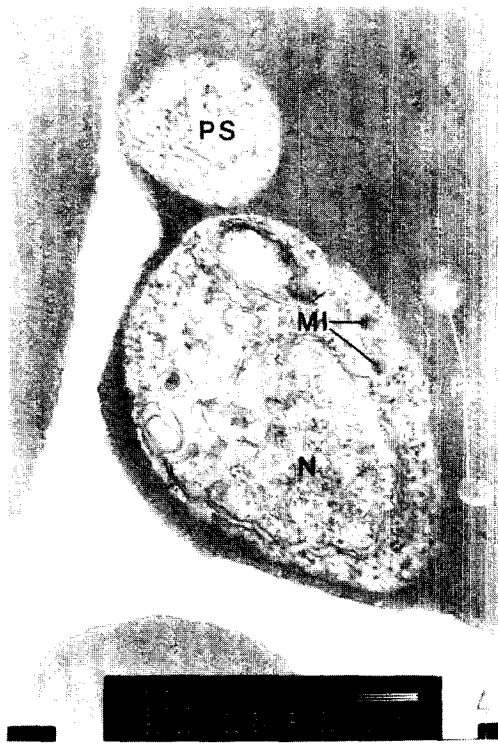
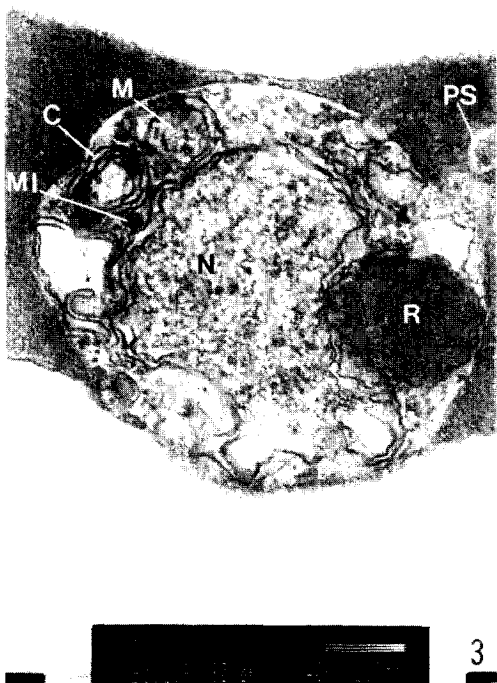
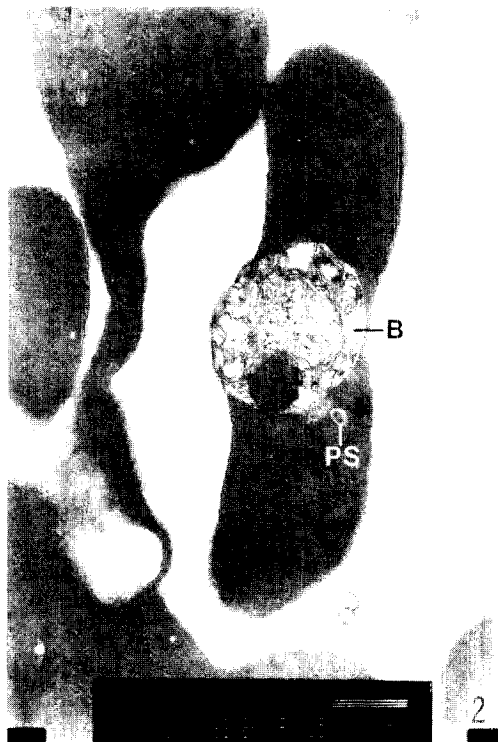
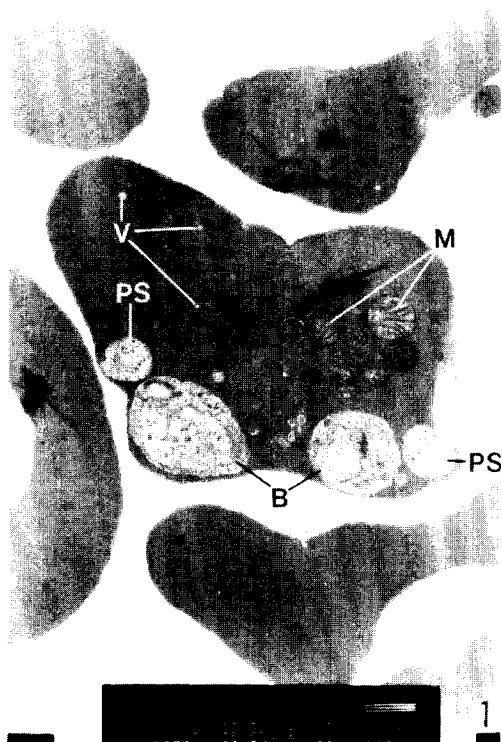
Fig 8. Binary fission-like form of the parasite. $\times 45,000$

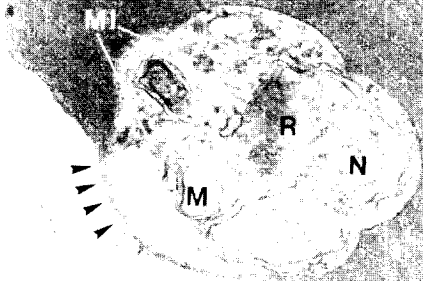
N: nucleus

Fig 9. Electron micrograph of *Babesia gibsoni* in a canine erythrocyte $\times 15,000$

M: Mitochondria ME: merozoite White arrow: Maurer's cleft-like structure

Fig 10. *Babesia gibsoni* in erythrocyte of experimental dog (Giemsa's stain $\times 1,000$)

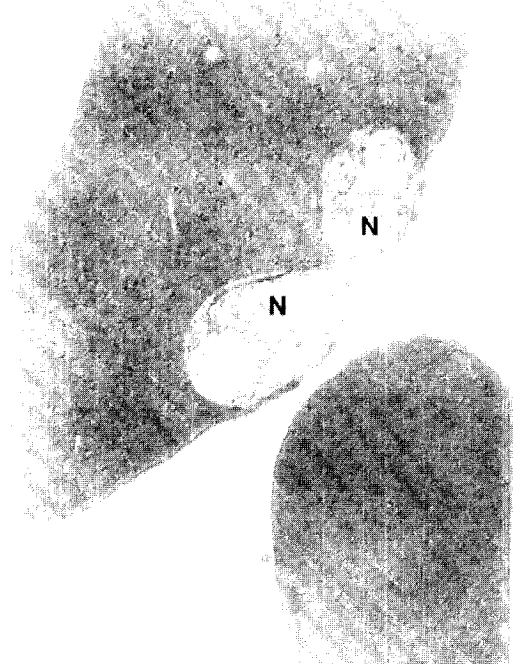




5



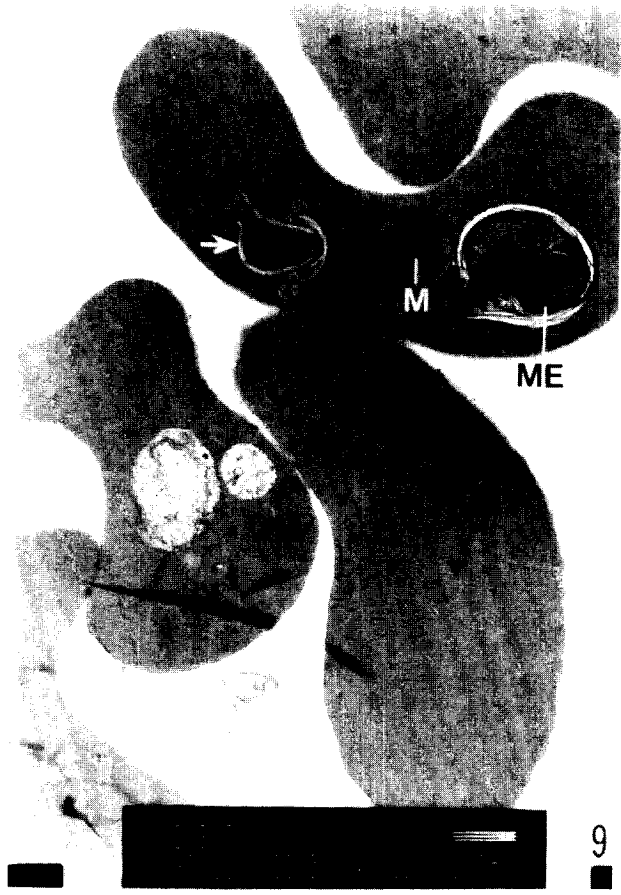
6



7



8



10

參 考 文 獻

- Farwell GE, Legrand EK, Cobb CC. Clinical observation on *Babesia gibsoni* and *Babesia canis* infection in dogs. *JAVMA* 1982;180:507~511.
- Fowler JL, Ruff MD, Hornof WJ. Modification of field's stain for examination of growth forms of *Babesia gibsoni*. *Am J Vet Res* 1970;31:1079~1083.
- Mimori T, Kono I, Sakamoto et al. Morphological studies of multiplication of *Babesia gibsoni* in canine erythrocytes. *Jpn J Vet Sci* 1982;44:699~701.
- Namikawa K, Sunaga F, Kanno Y. Morphology of *Babesia* in canine erythrocytes. *Jpn J Vet Sci* 1988;50:936~938.
- 채준석, 인동철, 한재철 등. Canine *Babesia* spp 감염症例. 韓國臨床獸醫學會誌 1989;6:21~27.
- 申相泰, 崔熙仁, 成在基等. 사냥개에서의 *Babesia gibsoni* 감염. 韓國臨床獸醫學會誌 1987;4:61~67.
- 孫濟英. 韓國에서 發生한 Canine babesiosis에 관한 研究: 第三報 自然發生患犬의 臨床觀察 및 患犬 發生地域 飼育犬에 대한 調査. 大韓獸醫學會誌 1964;4:7~14.
- 李學豪, 金泰鐘, 李元暢. *Babesia gibsoni*가 感染된 개에 관한 研究. 大韓獸醫師會誌 1984;20:161~168.
- Yonamine H, Ichiki H, Hamakawa M et al. Studies on canine Babesiosis in Okinawas Island. *Jpn J Vet Sci* 1984;46:511~518.
- Groves MG, Yap LF. *Babesia gibsoni* in a dog. *JAVMA* 1968;153:614~689.
- Anderson JF, Magnarelli LA. Canine Babesia new to North America. *Science* 1979;204:1431~1432.
- Klinefelter MR. Cause, diagnosis, and treatment of canine piroplasmiasis. *Veterinary Medicine/Small Clinician* 1982;1505~1508.
- Botros BAM, Moch RW, Barsoum IS. Some observation on experimentally induced infection of dogs with *Babesia gibsoni*. *Am J Vet Res* 1975;36:293~296.
- Sunaga F, Namikawa K, Kanno Y. The thermic circadian rhythm of dogs infected with *Babesia gibsoni*. *Jpn J Vet Sci* 1988;50:279~281.
- Sunaga F, Namikawa K, Kanno Y. Analysis of thermic circadian rhythm and degree of parasitemia in dogs infected with *Babesia gibsoni*. *Jpn J Vet Sci* 1988;50:925~929.
- Fowler JL, Ruff MD, Fernau RC et al. *Babesia gibsoni*: Chemotherapy in dogs. *Am J Vet Res* 1972;33:1109~1114.
- 南哲郎, 藤永徹. 獸醫住血微生物病. 近代出版, 1986;6:66~68.
- Amstutz HE, Archibald J, Armour J, et al. *The merck veterinary manual*. 6th. ed. Merck & Co., Inc. RAHWAY, N.J., U.S.A. 1986;1564~1567.
- Jain NC. *Schalm' veterinary hematology*. 3th. ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1986;599~601.
- Abdullahi SU, Sannusi A. Canine babesiosis. In: Kirk RW, ed. *Current veterinary therapy IX. Small animal practice*. Philadelphia: WB Saunders Co, 1986;1096~1098.
- Levine ND. *Veterinary protozoology*. 1st. ed. Iowa State University Press. Ames, 1985;306~307.
- Soulsby E.J.L. *Helminths, arthropods and protozoa of domesticate animals*. 7th. Bailliere Tindal, London, 1982;723~728.
- Ristic M, Lykins JD, Smith AR et al. *Babesia canis* and *Babesia gibsoni*: Soluble and corpuscular antigens isolated from blood of dogs. *Exp Parasitol* 1971;30:385~392.
- Popovic NA, Ristic M. Diagnosis of Canine Babesiosis by a Gel Precipitation Test. *Am J Vet Res* 1970;31:2201~2204.
- Anderson JF, Magnarelli LA, Sulzer AJ. Canine Babesiosis: Indirect fluorescent Antibody test for a North American isolate of *Babesia gibsoni*. *Am J Vet Res* 1980;41:2102~2105.
- Tamura T, Takahashi K, Sonoda M et al. Effect of some Immunosuppressive treatments in dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni*. *J Coll Dairying* 1979;8:89~98.
- Tamura T. Clinical and immunological studies on dogs infected with *Babsia gibsoni*. *J Coll Dairying* 1977;7:141.
- Tamura T, Takahashi K, Sonoda M et al. The indirect fluorescent antibody test as a method for detecting antibody in dogs infected with

- Babesia gibsoni*. *J Coll Dairying* 1980;8:249~256.
29. Morishige T, Takahashi K, Abe S et al. Detection of circulating immune complex in dogs infected with *Babesia gibsoni*. *J Coll Dairying* 1988;12:443~452.
30. Takahashi K, Sonoda M, Kurosawa T. Immunopotentiating effect of levamisole in dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni*. *J Coll Dairying* 1981;9:123~134.
31. Kawai S, Takahashi K, Sonoda M, et al. Ultrastructure of intra-erythrocytic stages of *Babesia ovata*. *Jpn J Vet Sci* 1986;48:943~949.
32. Ruzinska MA. Morphologic aspect of host-cell-parasite relationships in Babesiosis. *Babesiosis*. Academic press, 1981;4:87~141.