



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

碩士學位論文

제주 노루의 흡혈절지동물 매개에 의한
주혈기생충성 질병 조사

濟州大學校 大學院

獸醫學科

李 橡

2013年 7月

제주 노루의 흡혈절지동물 매개에 의한 주혈기생충성 질병 조사




指導教授 尹永玫

李 橡

이 論文을 獸醫學 碩士學位 論文으로 提出함

2013年 7月

李橡의 獸醫學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長	이	경감	
委 員	손	원근	
委 員	윤	영민	

濟州大學校 大學院

2013年 7月

Abstract

Detection of vector–borne hemoparasitic diseases in
Siberian roe deer (*Capreolus pygargus*) in Jeju Island,
South Korea.

Advised by professor Youngmin, Yun

Sang, Lee

Department of Veterinary Internal Medicine,
Graduate School, Jeju National University

Siberian Roe deer which inhabits Jeju Island is unique native species, because Jeju roe deer has significant differences in morphology compared with Inland roe deer in Korea because of geographical isolation. Most of all the wild deer infect a lot of blood sucking arthropods, which can affect its population directly and can act as a vector to spread vector–borne diseases. These diseases have not been evaluated in roe deer in Korea. The purposes of this study were to identify blood sucking arthropods on roe deer, and examine the prevalence of vector–borne diseases including piroplasmosis (*Babesia/Theliera* spp.) and Anaplasmosis (*Anaplasma/Ehrlichia* spp.) in

wild and captive Jeju roe deer and in the blood sucking arthropods.

We identified blood-sucking arthropods from roe deer and examined the vector-borne diseases in 31 roe deer (23 wild deer from Jeju Wildlife Rescue Center, 8 captive deer from Roe Deer Observation Center) and the arthropods (ticks, keds).

As a result, two kinds of blood sucking arthropods on roe deer were collected; one species of tick (*Haemaphysalis longicornis*) and one species of ked (*Lipoptena fortisetosa*). *Theileria luwenshuni* was detected in 4 captive deer (50.0%), 23 wild deer (100%), and 8 *H. longicornis* (34.8%), but *Babesia crassa* was detected from only 1 captive roe deer (12.5%). *A. phagocytophilum* was detected in 2 captive (25.0%), 9 wild deer (39.1%), and 4 *H. longicornis* (17.4%). Nothing was detected in *L. fortisetosa* in this study.

These results indicate that there may be a high prevalence particularly of *Theileria* sp. infection in Jeju wild roe deer and *H. longicornis* is a major vector of these diseases. Also, it suggested that Jeju roe deer may act as reservoirs for these zoonotic pathogens.

Key words: Siberian roe deer, blood sucking arthropods, piroplasmosis, anaplasmosis, Jeju

목 차

영문초록

I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	7
III. 결 과	17
IV. 고 찰	31
V. 결 론	36
VI. 참고문헌	38

I. 서 론

노루(Roe deer, *Capreolus* sp.)는 소목(Order Artiodactyla), 사슴과(Family Cervidae), 노루족(Tribe Capreolini)에 속하는 포유동물로서 제주도를 포함한 우리나라 전역에 서식하고 있으며, 유럽노루(European roe deer, *Capreolus capreolus*)와 시베리아노루(Siberian roe deer, *Capreolus pygargus*) 등 2개의 종으로 구분되어 있다[10]. 현재 제주도를 포함한 한국에서 서식하는 노루는 시베리아노루이며, 최근 연구결과에 의하면 *Capreolus pygargus tianschanicus* 아종으로 알려져 있지만, 다른 세 아종의 이름(*bedfordi*, *mantschuricus*, *ochracea*)으로도 분류되었다[10, 55]. 이처럼 한국 노루에 대한 분자유전학적 계통분류는 아직 명확히 정립되어 있지 않은 상태이다.

제주도에 서식하는 노루(*Capreolus pygargus*, 제주노루)는 장기간 지역적 격리로 인하여 한국 본토에 서식하는 노루와 몸무게, 뒷다리의 길이, 귀의 길이와 넓이 등의 외형적 차이가 있으며, 새로운 아종인 *Capreolus pygargus jejuensis* 으로 연구 보고된 바 있다[50].

진드기는 거미강(Arachnida)에 속하며, 큰진드기(ticks)와 쯤진드기(mites)로 구분된다. 큰진드기는 참진드기과(Ixodidae, hard ticks)와 공주진드기과(Argasidae, soft ticks)의 2과로 나뉜다. 쯤진드기는 움진드기과(Sarcoptidae)와 먼지진드기과(Pyroglyphidae)가 있다. 진드기는 세계적으로 널리 분포하며, 서식처의 다양성과 각기 다른 생활습성을 갖고 발달단계는 유충

(larvae) 시기를 지나 자충(nymph) 시기를 거쳐 성충(adults)이 된다[1, 2]. 우리나라에 서식분포하고 있는 큰진드기 종은 공주진드기과의 *Argas* 속에 3종, 참진드기과의 *Amblyomma* 속 1종, *Bophilus* 속 2종, *Dermacentor* 속 3종, *Haemaphysalis* 속 8종, *Ixodes* 속 10종 그리고 *Rhipicephalus* 속 1종 등 총 3과 7속 28종이다[4]. 국내에서 노루를 숙주로 하는 진드기로는 *Haemaphysalis longicornis* (작은소참진드기), *Haemaphysalis flava* (개피참진드기), *Ixodes nipponensis* (일본참진드기)가 보고 되고 있으나, 제주노루에서는 *H. longicornis* 가 우점종으로 알려져있다[32]. 이 진드기는 주혈원충성 질병인 theileriosis와 babesiosis의 주된 매개체로 알려져 있고[3], 국내에서는 *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Rickettsia* spp., *Bartonella* spp. 등의 병원체가 발견되고 있다[30, 45, 48]. 또한, 국내 환자들에서 *H. longicornis*의 의한 교상 및 질병이 보고되었다[33].

이파리 또는 hippoboscid 파리는 파리목(Diptera)에 속하며, 포유류나 조류에 기생하는 흡혈 절지동물이다. 성충은 납작하여 새의 깃털이나 포유류의 털 속에서 움직이기 용이하며, 발톱이 있어서 숙주의 깃털이나 털에 잘 매달릴 수 있다. 전세계적으로 hippoboscidae과에는 21개의 속과 213개의 종이 있으며, 이 중 *Lipoptena*속에는 약 30개의 종이 있다[12]. *Lipoptena*속은 '사슴이파리(deer keds)'로 알려져 있고 사슴, 염소, 양, 영양 등을 숙주로 한다. 이들은 숙주에 부착될 때 날개를 떨어뜨리고 날개근육을 위축시킨다[35]. 사슴이파리에서 보고된 흡혈절지동물-매개성 질병으로는 *Bartonella* spp., *Anaplasma ovis*, *Rickettsia* spp. 등이 있다[20, 25]. 국내에 보고된 *Lipoptena*속 이파리는 2 종으로 1990

년도에 제주에서 수집한 이파리 1마리가 2009년에 *L. fortisetosa*로 보고되었고 [64], 2008년 강원도, 경상북도, 울산시에서 고라니로부터 채집한 이파리가 *L. cervi*로 보고되었다[31]. 그러나 국내 노루를 숙주로 하는 이파리는 아직 보고된 바가 없다.

야생동물에서의 병원체에 대한 조사는 그 종의 보존에 있어서 매우 중요할 뿐만 아니라 질병의 역학에 있어서도 매우 의미있는 정보를 제공한다. 반추동물에서 중요하게 여겨지는 주혈기생충성 질병으로는 piroplasmosis (babesiosis, theileriosis), anaplasmosis, ehrlichiosis 등이 있으며, 이러한 질병은 경제적으로 큰 손실을 가지고 온다 [57].

Piroplasmosis는 적혈구내 기생하는 원충인 *Theileria*와 *Babesia*에 의해 야기되며, Ixodidae과의 경진드기(hard-ticks)에 의해 전파된다[24]. 열대지방과 아열대 지방에서 가축 생산성에 막대한 영향을 주는 질병으로 소, 양, 염소, 사슴 등의 가축 반추동물에서의 연구가 많이 이루어지고 있다. 소형 반추동물에서 보고된 babesiosis의 원인체로는 *Babesia motasi*, *B. ovis*, *B. crassa* 등이 있고, theileriosis의 원인체로는 *Theileria lestoquardi*, *T. ovis*, *T. separata*, *Theileria* sp. China 1 (*T. luwenshuni*), *Theileria* sp. China 2 (*T. uilenbergi*), *T. recondite*, *Theileria* sp. OT1, *Theileria* sp. OT3 등이 있다[5, 65].

최근에는 야생 반추동물에서도 *Theileria* sp. 연구가 진행되어, 일본[26], 독일 [19], 한국[21] 등에서 보고된 바가 있다. 미국에서는 흰꼬리사슴(white-tailed deer, *Odocoileus virginianus*), 엘크(*Cervus canadensis*), 물사슴(mule

deer, *Odocoileus hemonius*), 엑시스사슴(*Axis deer*, *Axis axis*), 그리고 일본의 일본사슴(sika deer, *Cervus nippon*)에서 *T. cervi*의 발생이 보고되었으며, 매개체인 진드기의 지리학적 분포에 따라 이 기생충 또한 분포하는 것으로 알려졌다[36, 38, 59]. *T. cervi* 감염은 보통 불현성이지만 다른 기생충감염이나 영양장애, 스트레스 등으로 면역이 떨어졌을 때에는 임상증상을 일으키기도 한다 [16, 36, 62].

*B. bigemina*와 *B. bovis*는 멕시코의 흰꼬리사슴에서 보고되었으며 *B. odocoilei*의 항체도 발견되었다[59, 60]. 이러한 기생충이 야생사슴류 개체군에 미치는 영향에 대해서는 아직 알려진 바가 없으나, 면역억제된 사슴류에서는 뚜렷한 임상증상이 보고되기도 하였다[51].

한국에서 theileriosis는 가축 소에서 매우 빈번하게 발생하며 babesiosis는 개와 말에서는 흔하게 발견되는 질병이지만, 야생동물에서는 고라니(*Hydropotes inermis argyropus*)에서의 *Theileria* sp.의 발생률[21]과 너구리(*Nyctereutes procyonoides*)에서의 *Babesia microti*-like parasite가 보고된 것이 전부이다 [22]. 또한 2006년에는 사람 babesiosis에서 *Babesia* sp. (KO1)가 새롭게 보고되었으며 이는 Ovine *Babesia*와 98% 유사성을 가짐으로써 소형 반추동물에서의 babesiosis가 공중보건학적으로 중요하게 여겨지고 있다[34].

Anaplasmosis는 흡혈성 절지동물인 진드기, 이파리, 모기 등에 매개되는 인수 공통전염병으로, anaplasmatocae과의 속하는 절대 세포내 기생성 진드기 매개 세균(obligate intracellular tick-borne bacterium)에 의해 발생된다.

Anaplasmatataceae과는 *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Neorickettsia*, *Wolbachia*로 총 4개의 속으로 나누어지고, *Anaplasma* 속은 *A. phagocytophilum*, *A. bovis*, *A. centrale*, *A. marginale*, *A. ovis*, *A. platys* 등의 6개의 종으로 구분된다[14].

A. phagocytophilum (formerly *Ehrlichia phagocytophila*)은 human granulocytic anaplasmosis의 원인체로도 알려져 있으며[9], 반추동물, 말, 개에서 발열을 일으키는 급성 전염병이다[14]. *A. phagocytophilum*은 곰[13, 58], 고양이[7], 개[37], 회색다람쥐(gray squirrels)[47], 말[44], 마우스[56], 퓨마(mountain lions)[15], 라쿤[40], 들쥐(voles)[42, 61], 스킵크[40], 흰꼬리사슴[41], 숲쥐(woodrats)[46] 등 다양한 동물에서 발견되었다. 한국에서는 사람과 고양이, 말, 소의 혈청에서 *Ehrlichia chaffeensis*와 *A. phagocytophilum*의 항체가 보고되었으며[8, 23], *H. longicornis* 및 *Ixodes* 속의 진드기로부터 *A. phagocytophilum*, *A. bovis*, *A. centrale*, *A. platys*, *E. chaffeensis* 등이 검출된 바 있다[48].

야생 사슴류는 *Anaplasma* sp.와 *Ehrlichia* sp.의 보유숙주 역할을 하는 것으로 알려져있다. 미국의 흰꼬리사슴, 노루(*Capreolus capreolus*), 물사슴에서 *A. phagocytophilum*이 보고되었으며[6, 41, 42, 62], 유럽에서는 Iberian red deer (*Cervus elaphu shispanicus*)와 노루에서 *Anaplasma* spp.가 발견되었다[11, 49, 52]. 한국과 일본의 일본사슴에서 *Anaplasma* spp.와 *Ehrlichia* spp.가 검출되었으며[29, 39], 한국 고라니의 비장에서 *A. phagocytophilum*과 *A. bovis*가 검출되었다[28]. 이러한 연구결과는 야생 사슴류가 *Anaplasma*와 *Ehrlichia* spp. 감염의 보유숙주 역할을 한다는 것을 시사한다.

이와 같이 국내 야생 사슴류에 대한 질병연구는 매우 미비하며, 제주노루에 대한 전염성 질병은 연구된 바가 없다. 지난 수 십년 간의 밀렵단속과 적극적인 보호로 제주노루의 개체수의 급증함과 더불어 중산간 개발로 인한 서식지 감소로 인해 가축 및 사람간의 접촉이 증가되고 있다. 그리고 제주야생동물구조센터에 초여름부터 늦은 가을에 구조되는 모든 야생 노루에서는 건강상태에 따라 감염 정도의 차이는 있지만 흡혈성 진드기와 이파리가 발견되고 있다. 이는 제주노루가 흡혈절지동물 매개성 전염병에 대한 위험성에 노출되어 있으며, 인수공통질병을 매개하는 보균자로서의 역할의 가능성을 시사한다.

따라서 이 연구에서는 제주노루에 기생하는 흡혈절지동물을 동정하고, 이들이 매개할 수 있는 주혈 기생충성 전염병(piropalmsmosis, anaplasmosis)를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 대상동물 및 시료

시료는 2012년 1월부터 2013년 4월까지 제주대학교 야생동물구조센터(Jeju Wildlife Rescue Center)에 구조되거나 치료된 야생노루와 공원노루의 혈액과 이들로부터 채집한 흡혈절지동물(진드기, 사슴이파리)을 대상으로 하였다(Table 1).

야생노루 23마리는 교통사고, 미아, 탈진 등의 조난으로 야생동물구조센터를 통해 구조된 개체이며 공원노루 8마리는 노루생태관찰원(Roe Deer Observation Center)에서 부상이나 질병으로 내원한 개체로 총 31마리이다(Table 2). 노루의 혈액은 경정맥(Jugular vein) 또는 요골쪽피부정맥(cephalic vein)으로부터 채혈되었으며 EDTA 튜브와 heparin 튜브에 보관하였다. EDTA 처리된 혈액은 냉장보관 후 수 일 이내 DNA를 추출하였다.

Table 1. The number of Roe deer and blood-sucking arthropods collected.

Animals ^a	No. of Roe deer tested	No. of ticks collected ^b (No. of pools tested*)	No. of keds collected (No. of pools tested*)
JCRD	8	0	0
JWRD	23	41 (23)	33 (23)
Total	31	41 (23)	33 (23)

^aJCRD: Jeju Captive Roe Deer; JWRD: Jeju Wild Roe Deer

^bengorged female

* each pool collected from different hosts

Table 2. Information of Siberian Roe Deer

Sample ID ^a	Sex	Classes of age*	Captive/wild	Sampling date	Sampling sites (GPS-N/E)
JCRD01	female	2	captive	2012.1	Roe Deer Observation Center
JCRD02	male	2	captive	2012.1	Roe Deer Observation Center
JCRD03	female	2	captive	2012.1	Roe Deer Observation Center
JCRD04	female	2	captive	2012.2	Roe Deer Observation Center
JCRD05	female	2	captive	2012.2	Roe Deer Observation Center
JCRD06	male	2	captive	2012.10	Roe Deer Observation Center
JCRD07	male	2	captive	2013.3	Roe Deer Observation Center
JCRD08	female	2	captive	2013.4	Roe Deer Observation Center
JWRD01	male	2	wild	2012.1	33.19.023/126.23.001
JWRD02	female	1	wild	2012.2	33.25.215/126.33.051
JWRD03	female	2	wild	2012.3	33.24.200/126.26.140
JWRD04	male	2	wild	2012.3	33.27.226/126.32.445
JWRD05	male	0	wild	2012.6	33.26.180/126.32.470
JWRD06	female	2	wild	2012.7	33.26.240/126.29.150
JWRD07	male	0	wild	2012.7	33.27.380/126.34.110
JWRD08	male	0	wild	2012.8	33.28.317/126.30.510
JWRD09	male	0	wild	2012.8	unknown
JWRD10	male	2	wild	2012.10	33.24.290/126.32.310
JWRD11	male	2	wild	2012.10	33.19.060/126.14.330
JWRD12	male	2	wild	2012.10	33.25.270/126.36.280
JWRD13	female	1	wild	2012.10	33.25.277/126.22.513
JWRD14	female	1	wild	2012.10	33.20.150/126.27.180
JWRD15	female	2	wild	2012.10	33.28.317/126.30.510
JWRD16	female	1	wild	2012.11	33.30.080/126.46.170
JWRD17	female	1	wild	2012.11	33.20.250/126.36.450
JWRD18	female	2	wild	2012.12	33.25.340/126.32.008
JWRD19	male	2	wild	2013.1	33.27.198/126.49.434
JWRD20	female	2	wild	2013.1	33.27.290/126.32.032
JWRD21	female	2	wild	2013.1	33.26.510/126.35.170
JWRD22	female	2	wild	2013.3	33.15.420/126.30.250
JWRD23	male	2	wild	2013.4	33.28.280/126.60.100

^aJCRD: Jeju Captive Roe Deer; JWRD: Jeju Wild Roe Deer

*Classes of age: Class 0: <6 months; Class 1: >6months, <1 years; Class2: >2 years

2. 혈액 및 혈청화학 검사

EDTA 처리된 혈액을 도말하여 김자염색 및 혈액검사(Manual)를 실시하였고, heparin 처리된 혈액은 혈장분리하여 cobas c 111 analyzer (Roche®, Switzerland)로 혈청화학검사를 하였다.

3. 흡혈절지동물 동정

채집된 흡혈절지동물은 동정 및 질병 분석까지 70% 에탄올에 넣어 4℃ 냉장 보관하였으며 광학현미경(Olympus CX31, Nikon Eclipse Ci.)을 이용하여 동정 하였다. 진드기의 경우 암컷 성충만 구별하여 이 연구에 활용하였다. 외부기생충의 동정을 위해 각 분류군별 전문 자료들을 활용하였으며, 특히 진드기류의 동정은 Yamaguti *et al.* (1971) [63], 이파리류는 Maa (1967) [43]와 Kowal *et al.* (2009) [27]의 연구보고 자료를 참고하였다(Figure 1, 2).

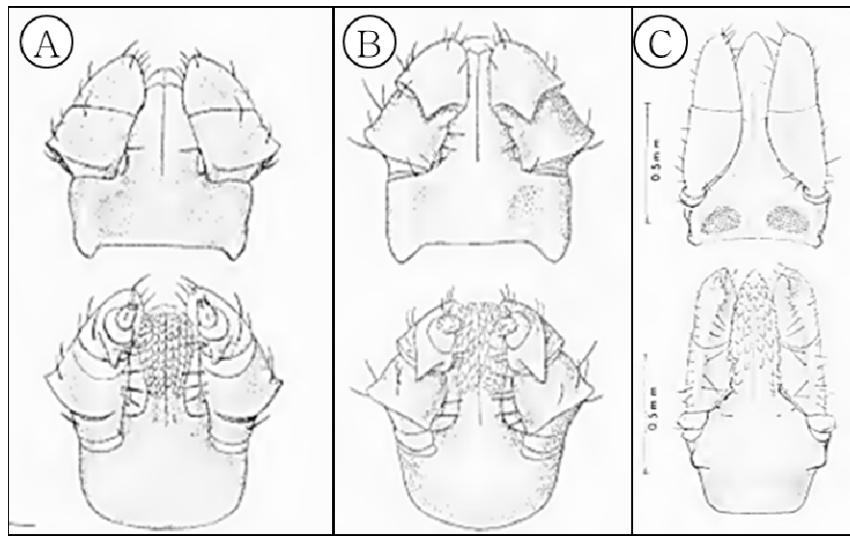


Figure 1. Apical part of female ticks (Ixodidae) previously collected roe deer in Korea (upper: dorsal part, lower: ventral part) (Yamaguti *et al.* 1971).

(A) *Haemaphysalis flava*. Female.

(B) *Haemaphysalis longicornis*. Female.

(C) *Ixodes nipponensis*. Female.

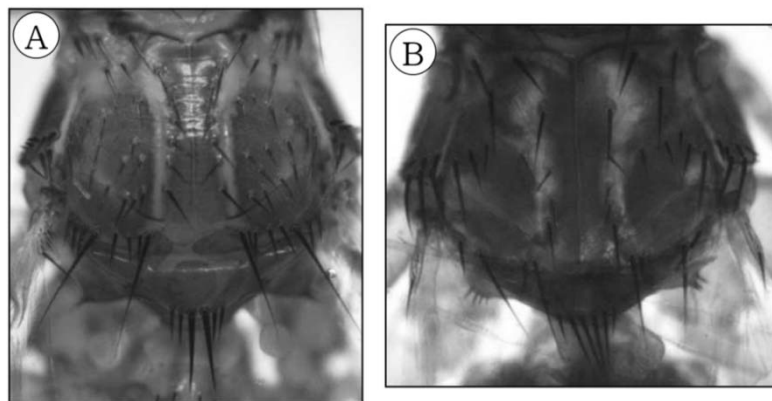


Figure 2. Thoracic dorsum of *Lipoptena* spp. in Korea (Kowal *et al.* 2009).

(A) *Lipoptena cervi*

(B) *Lipoptena fortisetosa*

4. DNA 추출

1) 노루혈액

노루 혈액에서 DNA는 EDTA 튜브로 처리한 전혈 0.3 ml을 G-Dex II™ blood DNA extraction kit (Intron, Korea)를 사용하여 추출하였으며, NanoVue 분광광도계(GE Healthcare, USA)를 이용하여 추출된 DNA의 최종 농도가 50–100 ng/μl 되도록 조정하였다

2) 흡혈절지동물

흡혈절지동물은 동일한 노루개체에서 채집된 것끼리 분류하여 이파리와 진드기를 개별검사 또는 그룹검사를 실시하였다. 진드기의 경우는 완전히 흡혈된 암컷 성충(fully engorged females)만 -20℃ 냉동한 후 머리부분만 멸균된 scapel로 절단하여 분리하였다. 진드기와 이파리를 1–4마리씩 그룹을 지어 각각 총 23개의 그룹으로 나누었고, DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 사용하여 DNA를 추출하였다. 그룹 지은 진드기와 이파리를 1.5 ml e-tube에 각각 넣고 제조사의 매뉴얼에 따라 플라스틱 pestle을 이용하여 파쇄하고 proteinase K로 외골격을 소화시킨 후 DNA를 추출하였다. NanoVue 분광광도계(GE Healthcare, USA)를 이용하여 추출된 DNA의 최종 농도가 50–100 ng/μl 되도록 조정하였다.

5. 원인체 동정

노루 혈액 및 외부기생충에서 추출한 DNA에서 *Babesia/Theileria* spp 또는 *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 감염 확인을 위하여 PCR을 실시하였다. PCR에 사용된 primer와 PCR조건은 다음과 같이 설정하였다(Table 3). 2X TOP simple TM DyeMIX (aliquot)-nTaq Kit (Enzynomics, Korea)를 사용하여 TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice (Takara Bio, Japan)로 유전자 증폭을 실시하였고 PCR 산물은 100 bp DNA ladder marker (Enzynomics, Korea)와 함께 1.2% agarose gel 전기영동하여 확인하였다.

1) *Babesia/Theileria* spp.

Babesia/Theileria spp.는 BABGF2-BABGR2 (BAB primer)와 cBabe18sF-cBabe18sR primer set (cBabe primer)를 이용하여 PCR을 실행하였고, 노루 개체별 원인체 동정을 위해 RFLP를 실시하였다(Table 4). cBabe-18sF-cBabe-18sR primer set을 이용한 *Babesia/Theileria* spp. 18s rRNA의 PCR 산물 6 μ l와 제한효소 *AvaII* (Enzynomics, Korea) 1 μ l, 10X buffer 1 μ l, 증류수 2 μ l를 넣은 후, 37°C에서 1시간 배양하였다. 100 bp DNA ladder marker (Enzynomics, Korea)와 함께 1.8% agarose gel 전기영동하여 확인하였다.

2) *Anaplasma/Ehrlichia* spp.

Anaplasma/Ehrlichia spp.는 AE1F-AE1R primer set (AE primer)를 이용하여 PCR을 실시하였고, 증폭된 PCR 산물을 50배 희석하여 *A. phagocytophilum* 16S rRNA에 특이적인 EE3F-EE4R primer set (EE primer)으로 nested PCR을 실시하였다.

Table 3. PCR primers and reaction conditions used in this study.

Species and target gene	Primer	Oligonucleotide sequences (5' -3')	Product size (bp)	PCR condition			References
				Denaturation	Annealing	Extension	
<i>Babesia/Theileria</i> spp. 18S rRNA	BABGF2	GYTTGTAATTGGAATGATGG	559	94°C/30s	50°C/30s	72°C/30s	Malandrin <i>et al.</i> 2009
	BABGR2	CCAAAGACTTTGATTTCTCTC				35	
<i>Babesia/Theileria</i> spp. 18S rRNA	cBabe-18sF	GTTGATCCTGCCAGTAGT	1680-1720	94°C/30s	59°C/20s	72°C/30s	This study
	cBabe-18sR	AACCTTGTTACGACTTCTC				35	
<i>Anaplasma/Ehrlichia</i> spp. 16S rRNA	AE1-F	AAGCTTAACACATGCAAGTCGAA	1406	94°C/30s	59°C/30s	72°C/30s	Oh <i>et al.</i> 2009
	AE1-R	AGTCACTGACCCCAACCTTAAATG				35	
<i>A. phagocytophilum</i> 16S rRNA	EE3F	GTCGAACGGATTATTCTTTATAGCT TGC	926	94°C/30s	56°C/30s	72°C/45s	Barlough <i>et al.</i> 1996
	EE4R	CCCTTCCGTTAAGAAGGATCTAATC TCC				35	

Table 4. PCR-RFLP profile information to identify *Babesia/Theileria* spp.

PCR-RFLP profile type (associated strain[s])*	Fragment size(s) (bp) after digestion with <i>AvaII</i>
1 (<i>B. crassa</i>)	390, 550, 720
2 (<i>T. luwenshuni</i>)	80, 460, 1150

*strains confirmed from the sequence analysis of the 18s rRNA of *Babesia/Theileria* spp. in this study

6. 염기서열 분석

Babesia/Theileria spp. PCR 양성시료와 *Anaplasma/Ehrlichia* spp. PCR 양성시료의 염기서열 분석을 위하여 PCR 산물을 T-vector에 클로닝하였다. 이 때 *Babesia/Theileria* spp.는 분석이 용이하도록 새로운 primer 조합을 적용하여 *Babesia/Theileria* spp.의 18s rRNA를 겹치도록 두 부분으로 나누어 각각 PCR을 실시하였다(Table 5).

PCR 산물을 1.2% agarose gel에 전기영동 한 후 MEGA-Bead® gel extraction kit (Intron, Korea)를 사용하여 gel elution하고 T-vector TOPcloner (Enzymomics, Korea)에 클로닝하였다. PCR 산물이 삽입된 vector를 DH-5 *a E. Coli* competent cells (Enzymomics, Korea)에 transformation 하고, 삽입이 확인된 *E. Coli*에 대해서는 ampicillin 함유 LB broth에 배양 (37°C, overnight)하였다. 배양된 *E. Coli*를 원심분리하고 QIAGEN® Plasmid mini kit (QIAGEN, USA)를 이용하여 plasmid를 추출하고, 염기서열분석을 의뢰하였다(Solgent, Korea).

Table 5. PCR primers used for 18s rRNA genes sequencing of *Babesia/Theileria* spp.

Primer	Amplified fragments	PCR condition			
		Denaturation	Annealing	Extension	Cycles
cBabe-18sF	1061bp	94°C/30s	50°C/30s	72°C/30s	35
BABGR2	From 1 to 1061				
BABGF2	1250bp	94°C/30s	59°C/20s	72°C/30s	35
cBabe-18sR	From 486 to 1735				

7. 상동관계 분석

MEGA 5.1 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Tamura K *et al.*) 프로그램을 이용하여 상동관계 분석 및 phylogenetic tree를 작성하였다. ClustalW를 이용하여 alignment를 실시하였으며 ‘neighbor-joining analysis’를 이용하여 phylogenetic tree를 제작하고, tree의 안정성을 조사하기 위하여 bootstrap analysis를 수행하였다.

III. 결 과

1. 제주노루에 기생하는 흡혈절지동물류

제주노루에 기생하는 흡혈절지동물로는 진드기류와 사슴이파리류가 채집되었다. 진드기는 완전히 충혈된 암컷 성충 41마리를 수집하였고, 사슴이파리는 33마리 수집하였다. 이들 모두는 야생노루에서 채집되었으며 공원노루는 외부기생충의 감염이 확인되지 않았다. 흡혈절지동물을 동정한 결과, 진드기는 작은소참진드기(*Haemaphysalis longicornis*) 1종이 동정되었고, 사슴이파리는 *Lipoptena fortisetosa* 1종이 동정되었다.

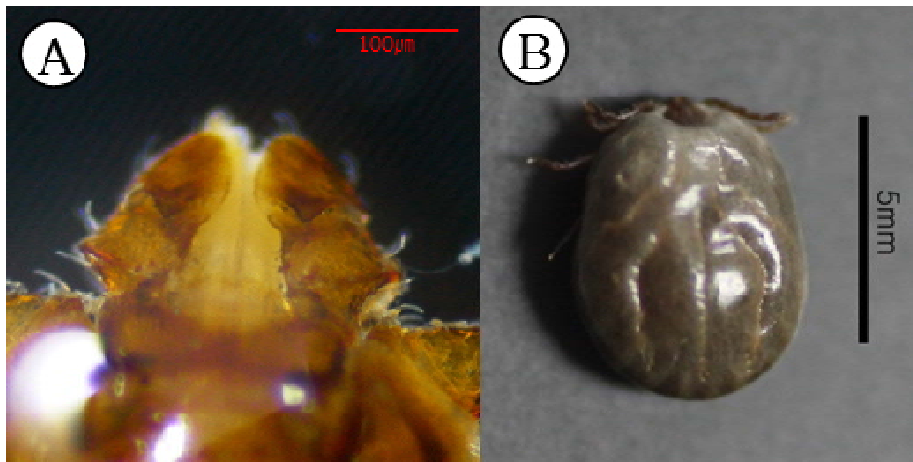


Figure 3. *Haemaphysalis longicornis* collected from roe deer.
(A) Apical part of female
(B) Engorged female



Figure 4. *Lipoptena fortisetosa* collected from roe deer.

2. 흡혈절지동물 매개 주혈기생충성 질병 조사

1) *Babesia/Theileria* spp.

Babesia/Theileria spp. PCR 결과 BAB primer를 사용하였을 때는 노루 31마리 중 22마리(71.0%)가 양성이었으나, cBabe primer를 사용하였을 때는 28마리(90.3%)가 양성이었다. cBabe primer-PCR은 양성이면서, BAB primer-PCR은 음성인 노루는 4마리였다. 진드기 23개의 그룹에서는 8개의 그룹(34.8%)이 양성으로 나타났으며, 사슴이파리에서는 모두 음성이었다. cBabe primer-PCR 양성인 시료에서 제한효소 *AvaII*를 사용하여 PCR-RFLP를 실시한 결과 노루 중 한 개체를 제외한 27마리와 진드기 8개 그룹에서는 같은 크기의 절편 다형성이 나타났으며, 노루 한 개체만 다른 형태를 나타냈다. 염기서열 분석결과에서 노루 27마리와 진드기 8개 그룹은 *Theileria luwenshuni*, 노루 한마리는 *Babesia crassa*로 확인되었다.

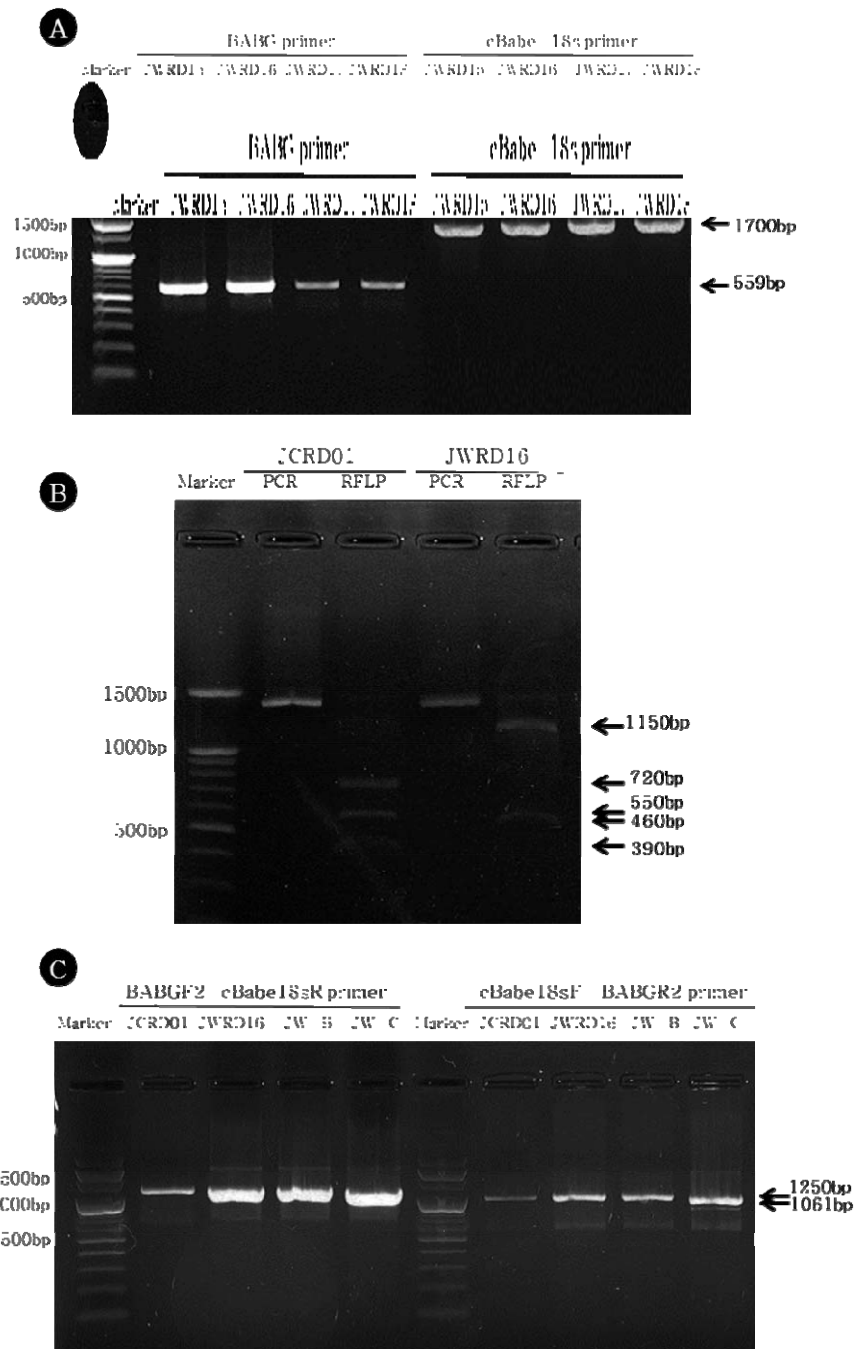


Figure 5. Electrophoresis analysis of DNAs amplified by PCR and PCR-RFLP targeted 18s rRNA of *Babesia/Theileria* spp. on 1.2% agarose gel (A) The sizes of amplified 18s rRNA product using BABG and cBabe-18s primer set are about 559 and 1700bp respectively. (B) The PCR-RFLP fragment sizes after digestion with *Ava*II are two types; One is 390, 550, 720 bp (*B. crassa*) and the other is 80, 460, 1150 bp (*T. luwenshuni*). 80 bp is not seen because of small size. (C) The size of the 18s rRNA product amplified by BABGF2- cBabe18sR primer was about 1250 bp., and the size of the 18s rRNA product amplified by cBabe18sF- BABGR2 primer was about 1061 bp.

(1) *Babesia/Theileria* spp. 18s rRNA의 염기서열 및 상동관계 분석

제주노루 2마리, 진드기 1군에서 PCR하여 검출된 *Babesia/Theileria* spp.의 18s rRNA를 염기서열의 크기는 각각 1668, 1712, 1715 bp 였다. *Babesia/Theileria* spp.의 18s rRNA 상동관계를 조사한 결과 제주노루에서는 *Babesia crassa*와 *Theileria luwenshuni* 2가지의 병원체가 동정되었다(Figure 6). 진드기에서 검출된 *Babesia/Theileria* spp.은 제주노루에서 동정된 *T. luwenshuni*와 98.5%의 유사성을 보였다(Table 7).

Table 6. Similarity matrix between partial 18s rRNA gene sequences of various *Babesia* strains.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	-	95.9	96.3	97.7	93.6	92.7	94.2	94.2	91.7	87.4	95.8
2		-	97.4	96.5	94.3	93.7	94.2	94.2	92.6	87.8	98.1
3			-	97.1	94.4	93.6	94.8	94.8	92.7	87.7	96.7
4				-	94.4	93.5	94.8	94.8	92.5	87.6	96.0
5					-	94.9	97.1	97.1	92.2	86.3	94.0
6						-	95.5	95.5	91.6	87.0	93.2
7							-	100.0	92.5	86.7	93.9
8								-	92.5	86.7	93.9
9									-	88.6	92.4
10										-	87.9
11											-

1, *Babesia* spp. 18s rRNA of JCRD01 (from roe deer in this study); 2, *B. motasi* (AY260179); 3, *B. ovata* (AY081192); 4, *B. crassa* (AY260176); 5, *B. divergens* (U07885); 6, *B. canis* (L19079); 7, *B. gibsoni* (DQ184507); 8, *Babesia* sp. (AF205636); 9, *B. ovis* (AY260178); 10, *B. bovis* (L19077); 11, *Babesia* sp. KO1 (DQ346955)

Table 7. Similarity matrix between partial 18s rRNA gene sequences of various *Theileria* strains.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	-	98.5	98.9	98.4	97.8	98.0	98.1	97.7	98.2	98.4	97.7	98.0	97.6	98.4	96.5	97.2	99.0
2		-	98.2	98.7	98.8	97.8	97.6	97.8	98.4	98.6	97.8	97.8	97.5	97.9	96.6	97.0	98.2
3			-	98.2	97.6	98.4	98.3	98.2	98.0	98.2	98.2	98.4	98.0	98.7	96.9	97.4	99.7
4				-	99.0	98.0	97.9	97.8	99.7	99.9	97.8	98.1	97.7	98.4	96.6	97.5	98.3
5					-	97.6	97.4	97.6	98.8	98.9	97.6	97.5	97.2	97.8	96.2	96.9	97.7
6						-	98.8	97.9	97.9	98.0	97.9	99.9	98.7	99.2	97.6	97.4	98.6
7							-	97.8	97.8	97.8	97.8	98.8	98.3	99.2	96.8	97.2	98.5
8								-	97.6	97.7	100.0	98.0	97.9	98.2	96.7	97.5	98.4
9									-	99.7	97.6	98.0	97.6	98.3	96.4	97.3	98.1
10										-	97.7	98.0	97.6	98.4	96.5	97.4	98.2
11											-	98.0	97.9	98.2	96.7	97.5	98.4
12												-	98.8	99.3	97.6	97.4	98.6
13													-	98.6	97.4	96.9	98.0
14														-	97.2	97.8	98.9
15															-	95.9	97.1
16																-	97.4
17																	-

1, *Theileria* spp. 18s rRNA of JWT05 (from ticks in this study); 2, JWRD16 (from roe deer in this study); 3, *T. cervi* (HQ184411); 4, *T. luwenshuni* (JX469518); 5, *Theileria* sp. (FJ668376); 6, *Theileria* sp. (FJ668373); 7, *Theileria* sp. (FJ668374); 8, *Theileria* sp. (AF036336); 9, *Theileria* sp. China 1 (AY262119); 10, *Theileria* sp. OT1 (AY533143); 11, *Theileria* sp. (AF036336); 12, *T. ovis* (AY260172); 13, *T. cervi* (AY735122); 14, *T. capreoli* (AY726011); 15, *T. lestoquardi* (AJ006446); 16, *Theileria* sp. (U97048); 17, *Theileria* sp. Iwata (AB602888)

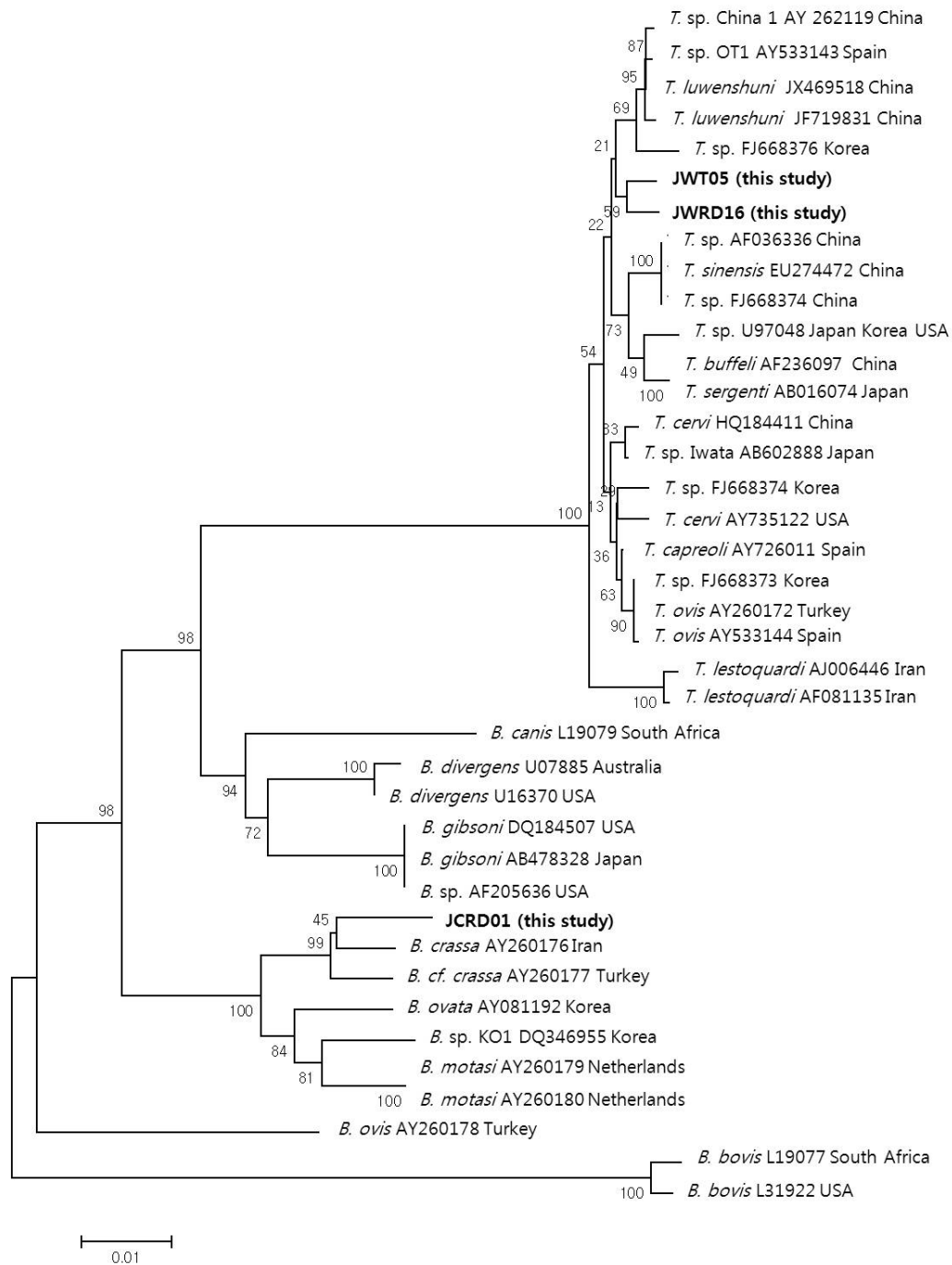


Figure 6. Phylogenetic tree of partial 18s rRNA gene sequences of various *Babesia/Theileria* species and PCR-amplified 18s rRNA products from roe deer and ticks. Phylograms were generated by neighbor-joining method with distance matrix calculation by Kimura's two parameters, operated by MEGA software version 5.10. Scale bar indicates the number of mutations per sequence position. The numbers at the nodes represent the percentage of 1000 bootstrap resamplings.

(2) 적혈구내 주혈원충

*B. crassa*와 *T. luwenshuni* 양성시료 중 28개의 혈액을 도말하여 김자염색을 실시한 결과 22개(78.6%)의 시료에서 적혈구내 원충이 확인되었다. 두 원인체의 크기와 모양이 상이하었는데, 크기는 장축을 기준으로 *B. crassa*가 2.1~2.7 μm , *T. luwenshuni*가 0.8~1.5 μm 이고 모양은 *B. crassa*는 원형의 테두리가 매우 진하고 두꺼운 반면, *T. luwenshuni*는 한쪽 모서리가 두꺼운 전형적인 반지 모양으로 관찰되었다(Figure 7).

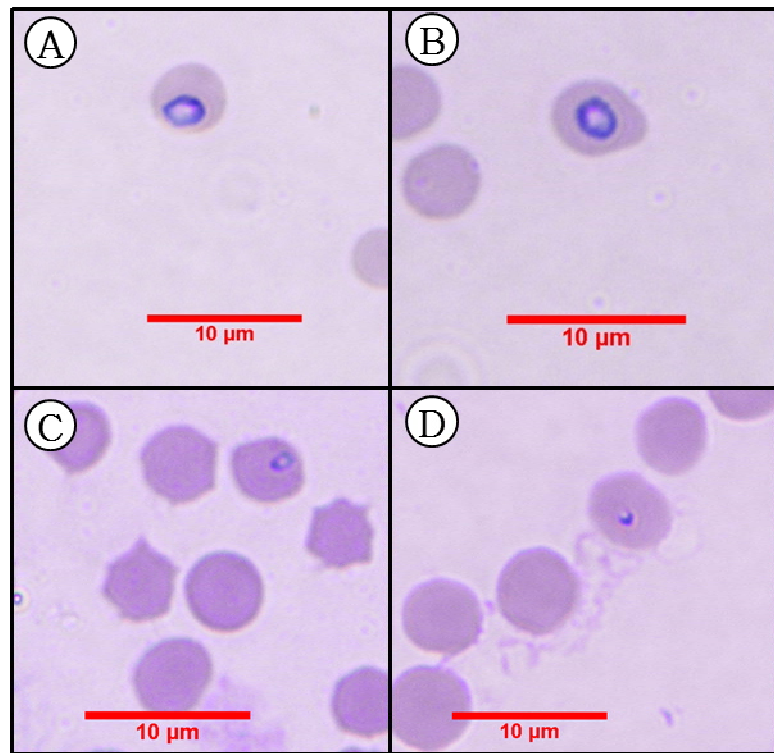


Figure 7. Two kinds of *Babesia/Theileria* spp. were seen inside erythrocyte of roe deer.

(A), (B): *B. crassa* (2.1~2.7 μm)

(C), (D): *T. luwenshuni* (0.8~1.5 μm)

(3) 혈액 및 혈청화학검사

혈액 및 혈청화학검사에서 특이적 이상소견이나 piroplasm 양성시료와 음성시료간의 유의적 차이는 없었다. 일부 개체에서 Creatinine phosphokinase와 aspartate aminotransferase 활성도의 증가를 확인하였다.

Babesia/Theileria spp. 양성 노루 28개체 중 4개체가 중증 빈혈(PCV< 20)을 나타내었으나, *Babesia/Theileria* spp. 음성인 노루 3개체에서 2개체도 중증 빈혈을 나타내었다(Table 8).

Table 8. Prevalence of anemia in roe deer.

Anemia (PCV)	Normal (≥ 30)	Mild ($\geq 20, < 30$)	Severe (< 20)
Captive roe deer	4 (12.9%)	0 (0%)	4 (12.9%)
<i>B. crassa</i>	0 (0%)	0 (0%)	1 (3.2%)
<i>T. luwenshuni</i>	3 (9.7%)	0 (0%)	1 (3.2%)
negative	1 (3.2%)	0 (0%)	2 (6.5%)
Wild roe deer	17 (54.8%)	4 (12.9%)	2 (6.5%)
<i>T. luwenshuni</i>	17 (54.8%)	4 (12.9%)	2 (6.5%)
Total	21 (67.7%)	4 (12.9%)	6 (19.4%)

2) *Anaplasma/Ehrlichia* spp.

AE primer를 이용하여 PCR을 수행하여 *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 감염률을 조사한 결과 노루 31마리 중 11마리(35.5%)에서 검출 나타났으며. 이 중 야생노루는 9마리(39.1%), 공원노루는 2마리(25.0%)였다. 진드기 23개의 그룹

에서는 4개 그룹이 양성으로 나타났고(17.4%), 이파리에서는 모두 음성을 나타내었다. *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 양성인 노루 10마리와 진드기 4그룹은 *Anaplasma phagocytophilum*에 특이적인 EE primer를 이용한 nested PCR을 수행한 결과 모두 양성으로 나타났다(Figure 8).

(1) *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 16s rRNA의 염기서열 및 상동관계 분석

염기서열분석 결과에서 제주노루와 *H. longicornis*에서 검출된 *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 는 *A. phagocytophilum*으로 동정되었다. 제주노루와 *H. longicornis*에서 검출된 *A. phagocytophilum*의 염기서열이 100% 유사성을 나타내었다.

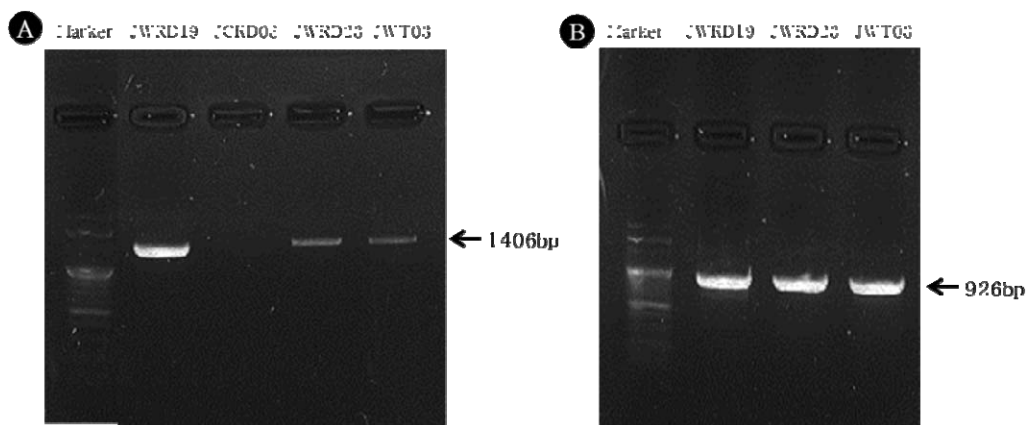


Figure 8. Electrophoresis analysis of DNAs amplified by PCR and nested PCR targeted 16s rRNA of *Anaplasma/Ehrlichia* spp. on 1.2% agarose gel. (A) The size of 16s rRNA product amplified by AE primer was 1406 bp. (B) The sizes of 16s rRNA product from nested PCR amplified by EE primer was 926 bp

Table 9. Similarity matrix between partial 16s rRNA gene sequences of various *Anaplasma/Ehrlichia* strains.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	-	100.0	99.0	99.0	98.8	99.6	99.6	99.2	98.1	98.2	96.2	91.7	91.9	91.4	97.7	95.8
2		-	99.0	99.0	98.8	99.6	99.6	99.2	98.1	98.2	96.2	91.7	91.9	91.4	97.7	95.8
3			-	100.0	99.8	99.2	99.5	99.8	98.5	98.3	96.2	92.3	92.6	92.1	97.3	95.8
4				-	99.8	99.2	99.5	99.8	98.5	98.3	96.2	92.3	92.6	92.1	97.3	95.8
5					-	99.0	99.2	99.6	98.2	98.1	95.9	92.1	92.3	92.1	97.1	95.6
6						-	99.8	99.5	97.9	98.2	96.0	92.2	92.4	91.9	97.7	95.7
7							-	99.5	97.9	98.2	96.0	92.2	92.4	91.9	97.4	95.7
8								-	98.5	98.6	95.9	92.2	92.4	91.9	97.5	95.6
9									-	97.5	95.7	91.1	91.3	90.8	97.4	95.3
10										-	96.2	91.2	91.4	90.8	97.1	95.7
11											-	90.9	90.9	90.6	95.5	99.1
12												-	98.2	97.4	90.9	90.4
13													-	97.8	90.7	90.4
14														-	90.4	89.9
15															-	95.3
16																-

1, *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 16s rRNA of JWRD19 (from roe deer in this study); 2, JWT03 (from ticks in this study); 3, *A. phagocytophilum* (AY055469); 4, *A. phagocytophilum* (AY527214); 5, *A. phagocytophilum* (AY969012); 6, *A. phagocytophilum* (GU064895); 7, *A. phagocytophilum* (GU556621); 8, *A. phagocytophilum* (AF470700); 9, *A. phagocytophilum* (AB196721); 10, *E. platys* (AF156784); 11, *A. marginale* (FJ226454); 12, *E. canis* (M73226); 13, *E. chaffeensis* (M73222); 14, *E. ewingii* (U96436); 15, *A. bovis* (EU181143); 16, *A. centrale* (AF318944)

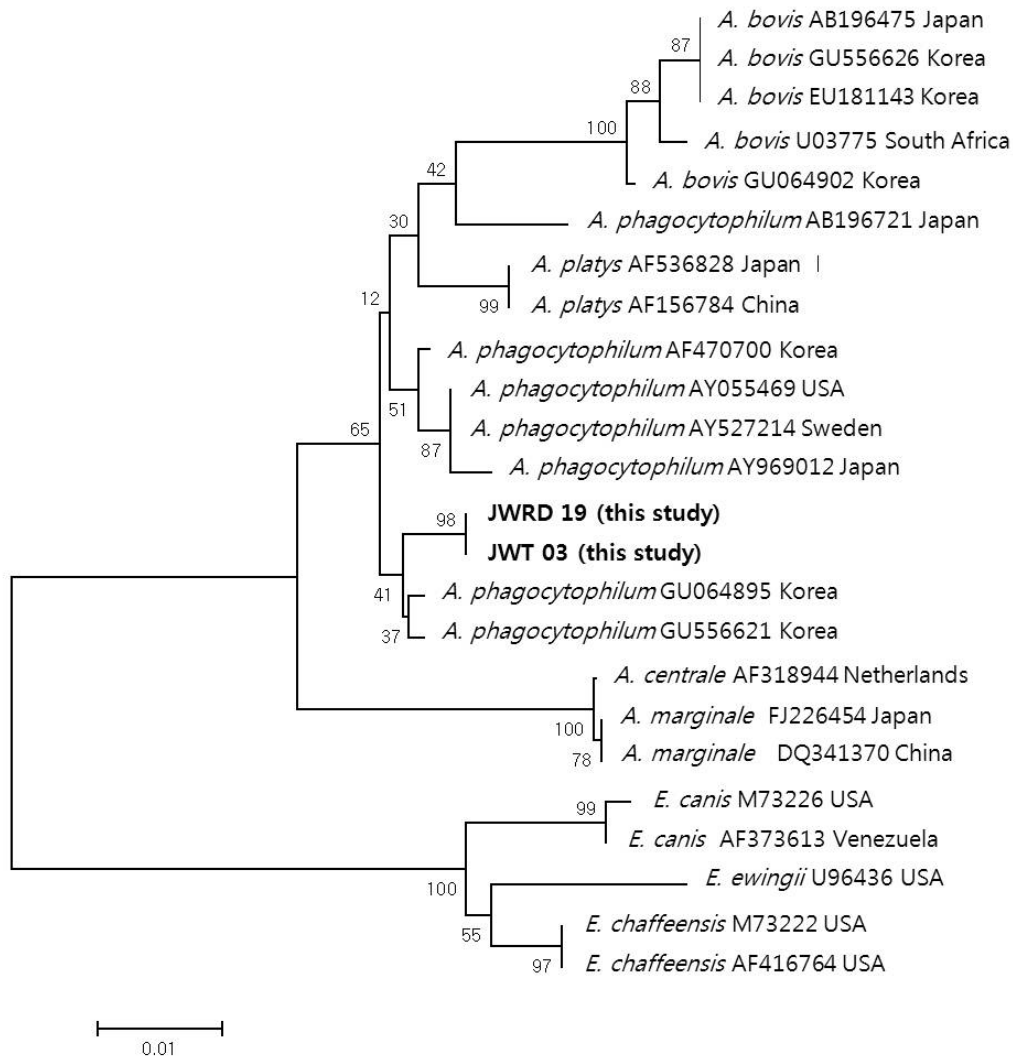


Figure 9. Phylogenetic tree of partial 16s rRNA gene sequences of various *Anaplasma/Ehrlichia* species and PCR-amplified 16s rRNA products from roe deer and ticks. Phylograms were generated by neighbor-joining method with distance matrix calculation by Kimura's two parameters, operated by MEGA software version 5.10. Scale bar indicates the number of mutations per sequence position. The numbers at the nodes represent the percentage of 1000 bootstrap resamplings.

Table 10. Prevalence of the vector-borne hemoparasitic diseases in roe deer and blood-sucking arthropods

PCR results	Roe deer (<i>Capreolus pygargus</i>)		Tick <i>H. longicornis</i>	Ked <i>L. fortisetosa</i>	Species confirmed from sequence analysis
	Wild	Captive			
No. of samples examined	23	8	23	23	
Positive for					
<i>Babesia</i> spp.	0 (0%)	1 (12.5%)	0 (0%)	0 (0%)	<i>B. crassa</i>
<i>Theileria</i> spp.	23 (100%)	4 (50.0%)	8 (34.8%)	0 (0%)	<i>T. luwenshuni</i>
<i>Anaplasma</i> spp.	9 (39.1%)	2 (25.0%)	4 (17.4%)	0 (0%)	<i>A. phagocytophilum</i>

IV. 고 찰

1. 제주노루에 기생하는 흡혈절지동물

제주노루를 숙주로 하는 진드기로는 *Haemaphysalis longicornis* (작은소참진드기), *Ixodes nipponensis* (일본참진드기) 2종이 알려져 있고 *H. longicornis* 가 우점종이다[32]. 그러나 제주노루를 숙주로 하는 이파리는 보고된 바가 없다. 본 연구에서 노루에서 기생하는 흡혈절지동물을 채집하여 동정한 결과, 1종의 진드기와 1종의 이파리류가 확인되었다. 진드기는 작은소참진드기(*Haemaphysalis longicornis*)로 동정되었고, 이파리는 *Lipoptena fortisetosa*로 동정되었다. *L. fortisetosa*는 한국에서 보고된 2종의 *Lipoptena* spp. 중 한가지로 다른 한 종은 고라니에서 채집한 *L. cervi*이다[31]. 또한 *L. fortisetosa*에 대한 보고는 Yamauchi *et al.*(2009)가 제주에서 채집한 1마리의 *L. fortisetosa* 보고가 전부이며, 제주노루에 대한 조사는 보고된 바 없다.

2. 흡혈절지동물매개에 의한 주혈기생충성 질병 (Piroplasmosis, Anaplasmosis)

Babesia/Theileria spp.는 진드기내에서 복잡한 발달 과정을 거친 후 진드기

가 숙주를 흡혈하는 동안에 전파된다[5]. 감염이 된 숙주는 병원체를 지속적으로 전파할 수 있는 보유숙주가 될 수 있으며, 대형 우제류가 piroplasm의 보유숙주 역할을 한다는 보고가 많이 되었다[18, 53]. 제주노루는 장기간 지역적 격리로 인하여 다른 지역에 서식하는 노루와는 외형적 차이가 있으며, 제주지역의 고유개체군으로 자리잡았다[50]. 그러나 최근의 제주노루의 개체수 증가와 중산간 지역 개발 서식지가 감소하면서 민가, 농지, 축산농가 등에서도 제주노루가 서식하면서 사람 및 가축간의 접촉이 늘어나고 있다. 제주노루에 기생하는 진드기인 *H. longicornis*는 노루 개체군에서 전반적으로 매우 빈번하게 발견되며, 제주야생동물구조센터에서 야생노루를 치료하는 과정 중에 진드기가 사람으로 옮겨 교상 피해를 주는 사고도 발생하였다. *Babesia/Theileria* spp.의 16s rRNA 유전자 확인을 위해 PCR을 실시한 결과, BAB primer를 사용하였을 때 전체 제주노루 중 71.0%가, cBabe primer를 사용하였을 때 90.3%가 양성을 나타내었다. cBabe-PCR 검사에서 양성인 시료는 4마리(14.%)였는데, 두 개의 PCR 결과에서 모두 양성인 노루와 cBabe-PCR 양성인 시료는 BAB-PCR 음성인 시료의 염기서열을 분석한 결과 두 시료 모두 BAB primer에 증폭될 수 있는 염기서열을 가지고 있었다. 이로 보아 cBabe-PCR은 양성인 시료는 BAB-PCR은 음성인 시료는 원인체의 농도 차이 또는 실험자의 기술적인 부분에서 차이가 나타나는 것으로 사료된다. 따라서 cBabe-PCR 결과를 기준으로 *Babesia/Theileria* spp. 감염여부를 판단하였다. 즉, 제주노루에서 *Babesia/Theileria* spp.의 감염률은 90.3%이며, 야생노루에서의 감염률은 100%로 모두 *Theileria* sp.로 동정되었다. 이는 야생노루에서 성별, 나이, 지역, 계절에 상관없이 전 개체군에 theileriosis가 감염되어 있음을 알 수 있다. 본 연구에

서 동정된 *T. luwenshuni*은 국내 및 제주도내 소에서 발견되는 *T. sergenti/buffleli/orientalis*와는 다른 종으로[17], Yin *et al.* (2008)에 의해 새롭게 분류된 종이다. 이는 중국에 양과 염소 등의 소형 반추류에서 발생하여 병원성을 나타내고 있다. 그리고 국내 고라니에서 보고된 *Theileria* sp.와 같은 분류군으로 97.7~98.1%의 유사성이 확인되었다.[21].

공원노루는 정기적 구충 및 외부기생충 관리 등으로 인하여 흡혈절지동물의 감염률이 현저히 낮았으며, *Babesia/Theileria* spp.의 감염률도(62.5%)로 야생노루와 많은 차이를 보였다. 공원노루 1마리에서 나온 *Babesia* sp.은 국내 개에서 발견되는 *B. gibsoni*와는 다른 종으로, *B. crassa*로 동정되었으며 이는 이란과 터키의 양에서 발견된 종과 같은 분류군이다[54]. 또한 Kim *et al.*(2007)가 보고한 바에 따르면 국내에서 처음으로 보고된 human babesiosis의 원인체 *Babesia* sp. KO1이 ovine *Babesia*의 유사성이 98.0%인 것이 확인되었다. 본 연구에서 규명된 제주노루의 *Babesia* sp.와 *Babesia* sp. KO1의 유사성은 95.8%로 야생사슴류-소형반추가축류-사람 간의 질병전파 가능성과 위험성에 대한 관심 및 지속적인 관찰조사가 필요하다고 판단된다.

혈액 김자염색 결과에서 양성시료 중 적혈구내 원충이 관찰된 것은 78.6%였고, *T. luwenshuni*와 *B. crassa*은 염색상에서 크기와 모양에서 차이를 보여 서로 구분이 가능하였다. CBC와 혈청화학검사에서는 특이적 이상소견이나 piroplasm 양성시료와 음성시료간의 유의적 차이는 없었다. 다만 Creatinine phosphokinase와 aspartate aminotransferase의 증가가 관찰되었는데 이는 병력 등을 참고해서 보았을 때 외상이나 스트레스에 기인한 것으로 사료된다.

Babesia/Theileria spp. 양성 노루 28개체 중 4개체가 중증 빈혈(PCV< 20)을 나타내었으나 *Babesia/Theileria* spp. 음성인 노루 3개체에서도 2개체가 중증 빈혈을 나타내었다. 야생노루의 경우는 100% *Theileria* spp. 감염이 확인되었음에도 불구하고 8.7%만 중증 빈혈이 나타난 것에 반하여, 공원노루는 질병유무와 관계없이 50%가 중증 빈혈을 나타내었다. 이러한 결과에서 빈혈이 *Babesia/Theileria* spp. 감염에 기인했다고 생각할 수 없으며, 빈혈의 원인을 규명하기 위해서는 노루 개체별 역학조사가 요구된다. *T. luwenshuni*는 야생노루에서 불현성 감염으로 진행되는 것으로 추정된다. 그러나 *B. crassa* 감염이 확인된 공원노루 1마리는 매우 심한 빈혈증상(PCV 7%)을 나타내다 폐사한 것으로 보아 *B. crassa*은 제주노루에 병원성이 있는 것으로 판단된다. 그러나 본 연구에서 1마리 증례만으로 단정지을 수 없기에 향후 추가적인 조사 연구가 필요하다.

Anaplasmosis는 흡혈성 절지동물인 진드기, 이파리, 모기 등에 매개하는 인수 공통전염병으로 본 연구에서 제주노루와 진드기에서 검출된 *A. phagocytophilum*은 다양한 동물뿐 아니라 human granulocytic anaplasmosis의 원인체로도 보고되었다[9]. 제주노루에서의 감염률은 야생노루에서는 39.1%, 공원노루에서는 25.0%로 나타났다. 제주노루와 진드기에서 검출된 *A. phagocytophilum*의 염기서열이 100% 유사성을 보였으며 또한 Oh *et al.*(2009)의 연구에서 제주도의 *H. longicornis*에서 검출된 *A. phagocytophilum*와 유사성은 96.6%였다. 국내 고라니에서 보고된 *A. phagocytophilum*[28]과의 유사성도 96.6%로 높은 상관관계가 있으며, *H. longicornis*가 매개체 역할을 할 수 있

다.

제주노루의 흡혈절지동물은 진드기 1종(*Haemaphysalis longicornis*, 작은소참진드기)과 사슴이파리 1종(*Lipoptena fortisetosa*)이 발견되었으며, 이들이 매개할 수 있는 질병 중 *T. luwenshuni*, *B. crassa*, *A. phagocytophium*이 검출되었다. 추후에는 제주노루에서 이러한 질병의 병원성과 사람이나 다른 가축으로의 전파 가능성에 대한 연구가 이루어져야 할 것이다.

V. 결 론

제주노루에서 발견되는 흡혈절지동물을 채집하여 동정하였고, 제주노루 31마리 (야생노루 23마리, 공원노루 8마리)와 흡혈절지동물 (*H. longicornis*, *L. fortisetosa*)로 부터 주혈기생충성 질병인 piroplasmosis (*Babesia/Theliera* spp.)와 Anaplasmosis (*Anaplasma/Ehrlichia* spp.)의 감염률을 확인한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 제주노루에서 기생하는 흡혈절지동물로는 진드기 1종(*Haemaphysalis longicornis*, 작은소참진드기), 사슴이파리 1종(*Lipoptena fortisetosa*, 국명 미정)이 발견되었다.
2. 제주노루의 혈액, 진드기와 사슴이파리에서 piroplasm (*Babesia/Theliera* spp.) 감염률을 조사한 결과 *Babesia crassa*가 공원노루 1개체에서만 발견 되었으며, *Theliera luwenshuni*의 경우 야생노루 23마리(100%), 공원노루 4마리(87.1%), *H. longicornis* 8그룹(34.8%)에서 확인되었다. *B. crassa*와 *T. luwenshuni* 양성시료 혈액을 도말하여 김자염색을 한 결과 18개의 혈액 (78.6%)에서 적혈구내 원충이 발견되었다.
3. *A. phagocytophilum*이 야생노루 9마리(39.1%), 공원노루 2마리(25.0%), *H. longicornis* 4그룹(17.4%) 발견되었다. 그러나 *L. fortisetosa*에서는 본 실험에서는 어떠한 병원체도 검출되지 않았다.

이상의 결과로 노루에서 *Babesia/Theileria* spp.와 *Anaplasma/Ehrlichia* spp.는 진드기 *H. longicornis*에 의해 전파되는 것으로 생각되며, 제주노루가 piroplasmosis나 *A. phagocytophilum*을 사람이나 가축에게 전파할 수 있는 보유숙주으로써 가능성이 있으므로 지속적인 조사 관찰이 필요하다.

VI. 참고문헌

1. 김관천, 이진중, 김종선, 조영관. 위생곤충학. 파주, 신광문화사 2007.
2. 이순형, 채종일, 홍성태. 임상기생충학 개요. 서울, 고려과학 1996.
3. 한국수의기생충학교수협의회. 수의기생충학. 농경애니텍 2005. .
4. 한국동물분류학회. 한국동물명집. 서울, 고려과학 1997.
5. Ahmed JS, Luo J, Schnittger L, Seitzer U, Jongejan F, Yin H. Phylogenetic position of small-ruminant infecting piroplasms. Ann N Y Acad Sci 2006; **1081**: 498-504.
6. Belongia EA, Reed KD, Mitchell PD, Kolbert CP, Persing DH, Gill JS, Kazmierczak JJ. Prevalence of granulocytic *Ehrlichia* infection among white-tailed deer in Wisconsin. J Clinl Microbiol 1997; **35**: 1465-1468.
7. Bjöersdorff A, Svendenius L, Owens JH, Massung RF. Feline granulocytic ehrlichiosis - a report of a new clinical entity and characterisation of the infectious agent. J Small Anim Pract 1999; **40**: 20-24.
8. Chae JS, Heo EJ, Park JH, Choi KS, Dumler JS, Lee SS, Kang TY, Yang JH, Kim DY, Kim JG, Choi GC, Kang MI. Detection of antibodies reacting with *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis* from cats, horses and cattle in Korea. J Vet Clin 2009; **26**: 515-519.
9. Chen SM, Dumler JS, Bakken JS, Walker DH. Identification of a granulocytotropic *Ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease. J Clin Microbiol 1994; **32**: 589-595.
10. Danilkin AA. Behavioural ecology of Siberian and European roe deer. London, Chapman & Hall, 1996.
11. De La Fuente J, Vicente J, Höfle U, Ruiz-Fons F, Fernández De Mera IG,

- Van Den Bussche RA, Kocan KM, Gortazar C. Anaplasma infection in free-ranging Iberian red deer in the region of Castilla-La Mancha, Spain. *Vet Microbiol* 2004; **100**: 163–173.
12. Dick CW. Checklist of world Hippoboscidae (Diptera: Hippoboscoidea). Department of Zoology, Field Museum of Natural History, Chicago, IL 2006.
 13. Drazenovich N, Foley J, Brown RN. Use of real-time quantitative PCR targeting the *msp2* protein gene to identify cryptic *Anaplasma phagocytophilum* infections in wildlife and domestic animals. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2006; **6**: 83–90.
 14. Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, Rikihisa Y, Rurangirwa FR. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; **51**: 2145–2165.
 15. Foley JE, Foley P, Jecker M, Swift PK, Madigan JE. Granulocytic ehrlichiosis and tick infestation in mountain lions in California. *Journal of Wildlife Diseases* 1999; **35**: 703–709.
 16. Fowler ME. Zoo and wild animal medicine In: Current therapy, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders. 1993.
 17. Fujisaki K, Kawazu S, Kamio T. The taxonomy of the bovine Theileria spp. *Parasitol Today* 1994; **10**: 31–33.
 18. García-Sanmartín J, Aurtenetxe O, Barral M, Marco I, Lavin S, García-Pérez AL, Hurtado A. Molecular detection and characterization of piroplasmids infecting cervids and chamois in Northern Spain. *Parasitology* 2007; **134**: 391–398.
 19. Höfle U, Vicente J, Nagore D, Hurtado A, Peña A, de la Fuente J, Gortazar C.

- The risks of translocating wildlife. Pathogenic infection with *Theileria* sp. and *Elaeophora elaphi* in an imported red deer. *Vet Parasitol* 2004; **126**: 387–395.
20. Halos L, Jamal T, Maillard R, Girard B, Guillot J, Chomel B, Vayssier-Taussat M, Boulouis HJ. Role of Hippoboscidae flies as potential vectors of *Bartonella* spp. infecting wild and domestic ruminants. *Appl Environ Microbiol* 2004; **70**: 6302–6305.
 21. Han JI, Jang HJ, Lee SJ, Na KJ. High prevalence of *Theileria* sp. in wild Chinese Water Deer (*Hydropotes inermis argyropus*) in South Korea. *Vet Parasitol* 2009; **164**: 311–314.
 22. Han JI, Lee SJ, Jang HJ, Na KJ. Asymptomatic *Babesia microti*-like parasite infection in wild raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in South Korea. *J Wildl Dis* 2010; **46**: 632–635.
 23. Heo EJ, Park JH, Koo JR, Park MS, Park MY, Dumler JS, Chae JS. Serologic and molecular detection of *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophila* (human granulocytic ehrlichiosis agent) in Korean patients. *J Clin Microbiol* 2002; **40**: 3082–3085.
 24. Homer MJ, Aguilar-Delfin I, Telford SR 3rd, Krause PJ, Persing DH. Babesiosis. *Clin Microbiol Rev* 2000; **13**: 451–469.
 25. Hornok S, de la Fuente J, Biró N, Fernández de Mera IG, Meli ML, Elek V, Gönczi E, Meili T, Tánczos B, Farkas R, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. First molecular evidence of *Anaplasma ovis* and *Rickettsia* spp. in keds (Diptera: Hippoboscidae) of sheep and wild ruminants. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011; **11**: 1319–1321.
 26. Inokuma H, Tsuji M, Kim SJ, Fujimoto T, Nagata M, Hosoi E, Arai S, Ishihara C, Okuda M. Phylogenetic analysis of *Theileria* sp. from sika deer, *Cervus nippon*, in Japan. *Vet Parasitol* 2004; **120**: 339–345.
 27. Jerzy K, Pawe N, Maria R, MAarcin M. New records of *Lipoptena fortisetosa*

- Maa, 1965 (Diptera: Hippoboscidae) in Poland. "DIPTERON." Bulletin of the Dipterological Section of the Polish Entomological Society 28: 23–28. 2009; **25**: 27–29.
28. Kang JG, Ko S, Kim YJ, Yang HJ, Lee H, Shin NS, Choi KS, Chae JS. New Genetic Variants of *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma bovis* from Korean Water Deer (*Hydropotes inermis argyropus*). Vector Borne Zoonotic Dis 2011; **11**: 929–938.
 29. Kawahara M, Rikihisa Y, Lin Q, Isogai E, Tahara K, Itagaki A, Hiramitsu Y, Tajima T. Novel genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma centrale*, and a novel *Ehrlichia* sp. in wild deer and ticks on two major islands in Japan. Appl Environ Microbiol 2006; **72**: 1102–1109.
 30. Kim CM, Kim JY, Yi YH, Lee MJ, Cho MR, Shah DH, Klein TA, Kim HC, Song JW, Chong ST, O'Guinn ML, Lee JS, Lee IY, Park JH, Chae JS. Detection of *Bartonella* species from ticks, mites and small mammals in Korea. J Vet Sci 2005; **6**: 327–334.
 31. Kim HC, Chong ST, Chae JS, Lee H, Klein TA, Suh SJ, Rueda LM. New record of *Lipoptena cervi* and updated checklist of the louse flies (Diptera: Hippoboscidae) of the Republic of Korea. J Med Entomol 2010; **47**: 1227–1230.
 32. Kim HC, Han SH, Chong ST, Klein TA, Choi CY, Nam HY, Chae HY, Lee H, Ko S, Kang JG, Chae JS. Ticks collected from selected mammalian hosts surveyed in the Republic of Korea during 2008–2009. Korean J Parasitol 2011; **49**: 331–335.
 33. Kim JE, Park HJ, Lee JY, Cho BK, Lee IY, Lee WK, Koh CJ. Three cases of tick bites by *Haemophysalis longicornis*. Korean J Dermatol 2003; **41**: 1198–1201.
 34. Kim JY, Cho SH, Joo HN, Tsuji M, Cho SR, Park IJ, Chung GT, Ju JW, Cheun HI, Lee HW, Lee YH, Kim TS. First case of human babesiosis in Korea: detection and characterization of a novel type of *Babesia* sp. (KO1) similar

- to ovine *Babesia*. J Clin Microbiol 2007; **45**: 2084–2087.
35. Kim KC, Adler PH. Patterns of insect parasitism in mammals. In: Coevolution of parasitic arthropods and mammals, New York: John Wiley & Sons; 1985: 157–196.
 36. Kocan AA, Kocan KM. Tick–transmitted protozoan diseases of wildlife in North America. Bull Soc Vector Ecol 1991; **16**: 94–108.
 37. Kohn B, Silaghi C, Galke D, Arndt G, Pfister K. Infections with *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Germany. Res Vet Sci 2011; **91**: 71–76.
 38. Laird JS, Kocan AA, Kocan KM, Presley SM, Hair JA. Susceptibility of *Amblyomma americanum* to natural and experimental infections with *Theileria cervi*. J Wildl Dis 1988; **24**: 679–683.
 39. Lee M, Yu D, Yoon J, Li Y, Lee J, Park J. Natural co–infection of *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma bovis* in a deer in South Korea. J Vet Med Sci 2009; **71**: 101–103.
 40. Levin ML, Nicholson WL, Massung RF, Sumner JW, Fish D. Comparison of the reservoir competence of medium–sized mammals and *Peromyscus leucopus* for *Anaplasma phagocytophilum* in Connecticut. Vector Borne Zoonotic Dis 2002; **2**: 125–136.
 41. Little SE, Stallknecht DE, Lockhart JM, Dawson JE, Davidson WR. Natural coinfection of a white–tailed deer (*Odocoileus virginianus*) population with three Ehrlichia spp.. J Parasitol 1998; **84**: 897–901.
 42. Liz JS, Anderes L, Sumner JW, Massung RF, Gern L, Rutti B, Brossard M. PCR detection of granulocytic ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in western Switzerland. J Clin Microbiol 2000; **38**: 1002–1007.
 43. Maa T. A synopsis of Diptera Pupipara of Japan. Pacific Insects 1967; **9**: 727–760.

44. Madigan JE, Gribble D. Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968–1981). *J Am Vet Med Assoc* 1987; **190**: 445–448.
45. Moon BC, Jeong JH, Choi YJ, Kim JE, Seo HJ, Shin EH, Song BG, Lee HI, Lee SH, Park KH. Detection and identification of the spotted fever group rickettsial agents from *Haemaphysalis* Ticks in Jeju Island, Korea. *J Bacteriol Virol* 2009; **39**: 317–328.
46. Nicholson WL, Castro MB, Kramer VL, Sumner JW, Childs JE. Dusky-footed wood rats (*Neotoma fuscipes*) as reservoirs of granulocytic ehrlichiae (Rickettsiales: Ehrlichieae) in northern California. *J Clin Microbiol* 1999; **37**: 3323–3327.
47. Nieto NC, Foley JE. Evaluation of squirrels (Rodentia: Sciuridae) as ecologically significant hosts for *Anaplasma phagocytophilum* in California. *J Med Entomol* 2008; **45**: 763–769.
48. Oh JY, Moon BC, Bae BK, Shin EH, Ko YH, Kim YJ, Park YH, Chae JS. Genetic Identification and phylogenetic analysis of *Anaplasma* and *Ehrlichia* Species in *Haemaphysalis longicornis* collected from Jeju Island, Korea. *J Bacteriol Virol* 2009; **39**: 257–268.
49. Oporto B, Gil H, Barral M, Hurtado A, Juste RA, Garcia-Perez AL. A survey on *Anaplasma phagocytophila* in wild small mammals and roe deer (*Capreolus capreolus*) in Northern Spain. *Ann N Y Acad Sci* 2003; **990**: 98–102.
50. Park YS, Lee WS, Kim JT, Oh HS. Morphological Examination of the Siberian Roe Deer *Capreolus pygargus* in South Korea. *J Anim Vet Adv* 2011; 2874–2878.
51. Perry BD, Nichols DK, Cullom ES. *Babesia odocoilei* Emerson and Wright, 1970 in white-tailed deer, *Odocoileus virginianus* (Zimmermann), in Virginia. *J Wildl Dis* 1985; **21**: 149–152.
52. Petrovec M, Bidovec A, Sumner JW, Nicholson WL, Childs JE, Avsic-

- Zupanc T. Infection with *Anaplasma phagocytophila* in cervids from Slovenia: evidence of two genotypic lineages. *Wien Klin Wochenschr* 2002; **114**: 641–647.
53. Sawczuk M, Maciejewska A, Adamska M, Skotarczak B. Roe deer (*Capreolus capreolus*) and red deer (*Cervus elaphus*) as a reservoir of protozoans from *Babesia* and *Theileria* genus in north–western Poland. *Wiad Parazytol* 2005; **51**:243–247.
54. Schnittger L, Yin H, Gubbels MJ, Beyer D, Niemann S, Jongejan F, Ahmed JS. Phylogeny of sheep and goat *Theileria* and *Babesia* parasites. *Parasitol Res* 2003; **91**: 398–406.
55. Sokolov VE. The contemporary ideas on roe deer (*Capreolus* Gray, 1821) systematization : morphological, ethological and hybridological analysis. *Mammalia* 1990; **54**: 431–444.
56. Telford SR 3rd, Dawson JE, Katavolos P, Warner CK, Kolbert CP, Persing DH. Perpetuation of the agent of human granulocytic ehrlichiosis in a deer tick–rodent cycle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **93**: 6209–6214.
57. Uilenberg G. International collaborative research: significance of tick–borne hemoparasitic diseases to world animal health. *Vet Parasitol* 1995; **57**: 19–41.
58. Vichová B, Majláthová V, Nováková M, Straka M, Pet'ko B. First molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in European brown bear (*Ursus arctos*). *Vector Borne Zoonotic Dis* 2010; **10**: 543–545.
59. Waldrup KA, Kocan AA, Qureshi T, Davis DS, Baggett D, Wagner GG. Serological prevalence and isolation of *Babesia odocoilei* among white–tailed deer (*Odocoileus virginianus*) in Texas and Oklahoma. *J Wildl Dis* 1989; **25**: 194–201.
60. Waldrup KA, Moritz J, Baggett D, Magyar S, Wagner GG. Monthly incidence of *Theileria cervi* and seroconversion to *Babesia odocoilei* in white–tailed

- deer (*Odocoileus virginianus*) in Texas. *J Wildl Dis* 1992; **28**: 457–459.
61. Walls JJ, Greig B, Neitzel DF, Dumler JS. Natural infection of small mammal species in Minnesota with the agent of human granulocytic ehrlichiosis. *J Clin Microbiol* 1997; **35**: 853–855.
62. Yabsley MJ, Davidson WR, Stallknecht DE, Varela AS, Swift PK, Devos JC, Jr, Dubay SA. Evidence of tick-borne organisms in mule deer (*Odocoileus hemionus*) from the Western United States. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2005; **5**: 351–362.
63. Yamaguti N, Toshioka S, Keegan HL, Tipton VJ. Ticks of Japan, Korea, and the Ryukyu Islands. In, 1971.
64. Yamauchi T, Tsurumi M, Kataoka N. Distributional records of *Lipoptena* species (Diptera: Hippoboscidae) in Japan and Jeju-do, Korea. *Med Entomol Zool* 2009; **60**: 131–133.
65. Yin H, Schnittger L, Luo J, Seitzer U, Ahmed JS. Ovine theileriosis in China: a new look at an old story. *Parasitol Res* 2007; **101**: S191–S195.