

Diminazene aceturate의 *Theileria sergenti* types에 대한 구충 효과

백병걸^{*}, 이영준, 김병수¹

전북대학교 생체안전성연구소, ¹서해대학 임상병리과
(게재승인 : 2002년 6월 3일)

Antiparasitic Effect of Diminazene Aceturate on *Theileria sergenti* Types in Calves

Byeong-Kirl Baek^{*}, Young-Jun Lee, Byeong-Soo Kim¹

Biosafety Research Institute, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Republic of Korea.

Department of Clinical Pathology, Sohae College, Kunsan 573-717, Republic of Korea.

(Accepted : June 3, 2002)

Abstracts : Bovine piroplasmiasis caused by *Theileria sergenti* results in economic loss in the dairy industry. The majority of calves infected with *T. sergenti* in Korea harbor mixed populations with Buffeli, Chitose and Ikeda types. The *T. sergenti* types of the infected calves were examined to evaluate the effects of diminazene aceturate on their infection. To confirm the type of the *T. sergenti* infection, the allele-specific PCR was performed with the erythrocyte specimen from the 5 naturally infected calves. The different allele-specific genes encoding the p32, p33 and 34, the immunodominant piroplasmin surface proteins, were amplified using the 3 sets of the oligonucleotide primers by PCR. The calves were treated with diminazene aceturate at the dose of 2mg/kg once intravenously and monitored for 12 months at one month intervals by the allele-specific PCR. Diminazene aceturate did not effect the Ikeda type infection. But diminazene aceturate effected the Chitose and Buffeli type infection reducing *T. sergenti* parasitemia. It is postulated that diminazene aceturate may effect the infection of the Chitose and Buffeli types, but not that of Ikeda type.

Key words : *Theileria sergenti*, Allele-specific PCR, diminazene aceturate, Cattle.

서 론

Theileriosis는 소에 기생하는 진드기매개 원충성 질병으로서 지역에 따라 각기 다른 종류가 분포하고 있으며, 주요 병원체로는 *T. parva*, *T. mutans*, *T. annulata* 그리고 *T. sergenti* 등을 포함한 12종이 분포하고 있다¹. 가장 병원성이 강한 *T. parva*나 *T. annulata*는 임파계에서 증식하며, 아프리카, 남유럽 그리고 남아시아에 분포하고 있

는 종이지만 한국과 일본 등의 극동아시아에는 비교적 병원성이 낮은 *T. sergenti*가 분포하고 있다². 그러나 *T. sergenti*는 비유량 감소, 체중 감소, 유산 및 빈혈 등을 야기 시키므로 양축농가에 많은 경제적 손실을 끼치고 있다³. *T. sergenti*의 세포막단백질 중 32 kDa 와 33 kDa 의 생산에 관여하는 rRNA의 핵산물질을 이용 일본과 한국 등지의 *T. sergenti* 감염 적혈구를 PCR방법으로 분석하였던 바, 지역별로 각기 다른 3가지 형 즉, Ikeda

이 논문은 2000년도 전북대학교의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

* Corresponding author : Byeong-Kirl Baek, Biosafety Research Institute, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Republic of Korea.

Table 1. Primer sequences for specific surface protein genes of the coding p32 *Theileria sergenti* piroplasm

Primers	Types	Sequences	bp
5'-Primer	Ts-I:	AAGGATCCGTCCTCTCGCTACCGCCGC	826 bp
	Ts-C:	GCGGATCCTCATCGTCTCTGCAACT	831 bp
	Ts-B:	GCGGATCCGCTCTGCAACCGCAGAG	825 bp
	Ts-U:	CACGCTATGTTGTCCAAGAG	875 bp
3'-Primer	Ts-R:	TGTGAGACTCAATGCGCCTA	

type, Chitose type 그리고 Buffeli type 등으로 구분하여 보고된 바 있다^{4,5,6}.

우리나라의 소에서는 *T. sergenti*, *Babesia ovata* 그리고 *Anaplasma marginale* 등과 같은 주혈기생충 등이 단독 또는 혼합 감염되어 있는 것으로 알려지고 있어^{7,8,9,10}, 이의 감별 진단에 따른 치료 대책의 수립이 필요할 것이다. 특히 Theileriosis의 예방대책 및 치료요법으로 매개체인 진드기 구제, 원충성 치료제의 사용, 면역형성 등의 방법 등이 있으나, 농촌현장에서는 항 원충제의 치료 효과에 대하여 항상 논란이 되고 있다.

이에 연구자 등은 원충성 살충제로서 Theileriosis와 Babesiosis 등의 치료 목적으로 반추수나 개 등에 사용^{11,12}되어온 diminazene aceturate(berenil)을 Theileriosis에 감염된 한우 5마리에 투여한 후, 치료 경과별 유전자형의 변이 여부를 확인하기 위해 allele-specific PCR 방법을 활용하였던 바 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

시험 동물

전라북도 임실군의 산간지역에서 방목, 사육되고 있는 한우 목장에서 3~5개월령의 송아지 2두가 폐사하였기에 같은 장소에서 사육중인 송아지와 어미 소를 대상으로 혈액 검사를 하였다. 검사결과 적혈구내에서 여러 형태의 *T. sergenti*가 관찰되었으며, 이 중 적혈구내 기생율이 30%~60% 인 송아지 5 두를 선발하여 본 실험에 사용하였다.

Diminazene aceturate의 투여

2mg/kg(Berenil, Hoechst)을 주사액에 희석하여, 4두에 정맥 주사하였으며, 1두는 치료를 하지 않고 계속 방목하였다.

채혈 및 혈액 검사

3~4 개월령의 송아지 5 마리를 2000년 6월부터 2001

년 5월까지 경정맥에서 채혈하여 hematocrit, RBC, WBC 등을 측정하였으며, 혈액도말표본은 giemsa 염색한 뒤 기생물의 변동 상황을 현미경하에서 관찰하였다.

Genomic DNA의 추출

혈액에서의 *T. sergenti* DNA를 추출하기 위해 Tanaka 등의 방법¹³으로 혈액을 전처리 하였다. 즉, 혈액을 3,000 ×g으로 4°C에서 10분간 3회 원심분리 후 PBS로 세척하여 혈장 성분과 buffy coat을 제거하고, 침전된 적혈구를 Intra-gene Matrix(Bio-rad)를 사용 DNA를 추출한 뒤 allele-specific PCR을 실시하였다.

Allele-specific PCR 조건

혈액에서 추출한 *T. sergenti* DNA의 증폭을 위한 PCR은 Kuboda 등의 방법⁴으로 allele-specific PCR을 실시하기 위해 Table 1과 같이 세 가지 유전자형에 따라 제작된 primer의 염기서열을 제작하였다. 즉, Universal primer sequence를 포함하여 4종의 5' primer와 한 종의 3' primer를 합성 제조하여 각기 교차 혼합 사용하였다. 즉, 혈액내에서의 DNA 검출을 위해서 Accu power™ PCR Premix(Bioneer Co.)에 각 형별 primer과 3' primer를 교차적으로 각각 2μl씩, 그리고 혈액으로부터 추출한 DNA를 2μl을 template로 추가하여 programmable thermal controller(MJ Research Inc.)에서 denaturation은 95°C에서 1.5분(첫 번째는 4분), annealing은 57°C에서 1.5분 그리고 extension은 72°C에서 1.5분(마지막은 4분)으로 35회 반복 실시하였다. DNA의 증폭 확인은 PCR 산물 7μl를 TAE(40 mM Tris-actate, 2mM EDTA, pH 8.0)완충액 중의 1% agarose gel에서 100V로 1시간 전기영동 시킨 후, ethidium bromide(0.5 μg/ml)에 염색하고 transilluminator로 PCR 증폭여부를 확인하는 방법으로 diminazene aceturate(berenil)의 치료에 따른 *T. sergenti* 유전자의 변화 pattern을 1년 동안 월별로 추적 확인하였다.

결 과

RBC내의 기생충 감염율의 변화

2000년 6월부터 2001년 5월까지 매월 채혈한 혈액을 giemsa 염색하여 확인하였던 바, Fig. 1과 같다. 치료 전(6월)에는 여러 형태의 충체가 적혈구내에서 관찰되었으나 치료 후에는 dot 형의 충체만이 관찰되었다. 그리고 적혈구내 기생율은 Table 2에서 보는 바와 같이 치료 전인 6월에는 평균 60%에 달하였는데, 치료 후 7, 8월에는 적혈구내 감염율이 20% 전후로 감소됨을 알 수 있

었다. 그리고 9월 이후 감염율은 약간 증가하였지만 전 시험기간에 15%의 일정한 수준을 유지하고 있음을 관찰할 수 있었다. 그러나 대조 송아지에서는 2000년 12월까지는 약 30~40%의 기생율을 나타내었지만, 2001년 1월 이후에는 점차적으로 감소되어 20% 수준을 유지하고 있었다.

혈액치의 변화

월별 혈액치의 변화는 Table 2와 같다. 총 적혈구수는 치료 전에 치료 군은 6월, 7월의 총 적혈구수는 3.975 ± 0.742

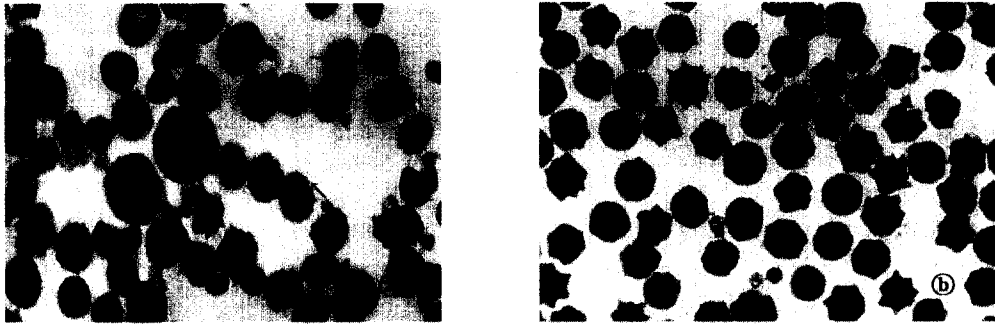


Fig. 1. The erythrocytes from a naturally infected calf with *Theileria sergenti* were stained with giemsa stain, (a) before berenil treatment, (b) after berenil treatment

Table 2. The blood profiles and parasitemia in calves infected with *T. sergenti* after berenil treatment

Calender 2000-2001	RBC($10^6/\text{mm}^3$)		WBC($10^3/\text{mm}^3$)		Ht(%)		Parasitemia(%)	
	T	N-T	T	N-T	T	N-T	T	N-T
2000 Jun	3.45	3.3	14.7	14.5	19	18.0	60	62
July	4.5	3.5	13.3	13.9	27	15	2	63
Aug	5.71	3.6	9.4	14.9	33	13.7	10	52
Sept	6.94	3.7	8.2	14.2	31.7	13.1	14	53
Oct	7.03	4.8	8.5	12.4	32	13.4	19	47
Nov	6.8	5.1	9	11.5	33	16.1	20	41
Dec	6.9	5.2	9.1	11.3	36	18.8	21	38
2001 Jan	6.8	4.8	8.9	11	34	18.5	22	38
Feb	6.5	4.7	8.8	12	35	13.9	18	35
March	6.3	4.9	8.64	12.3	35.5	13.4	16	36
April	6.5	4.2	8.5	12.4	34.5	13.4	19	32
May	6.3	5.0	7.9	12.5	33	13.1	21	30

T: Treated group with berenil N-T: Nontreated control group

Table 3. Monthly allele-specific PCR product patterns

Allele-specific PCR		2000 year						2001 year					
Months		Jun	Jul	Aug	Sept	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	April	May
Infected calves	Ikeda	[Reaction]											
	Chitose	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]
	Buffeli	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]
	Universal	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]
Control calf	I, C, B, U. types	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	[Reaction]	

■ : Reaction by PCR, □ : Non reaction by PCR

이었지만, 치료 후 8월 이후부터 시험이 끝나는 때까지 6.578 ± 0.402의 수치를 나타내고 있었으며, 대조군에서는 총 적혈구수가 4.402 ± 0.696를 나타내었었으며, 전 시험기간에 걸쳐서 심한 빈혈소견을 유지하고 있었다. 총 백혈구수는 치료 전에 있어 치료군은 총 백혈구수가 14 ± 0.989 이었지만, 치료 후 8월 이후부터 시험이 끝나는 때까지 8.694 ± 0.442의 수치를 나타내고 있었으나, 대조군에서는 총 백혈구수가 12.74 ± 1.310를 나타내었다. 적혈구용적치(Ht)의 변화는 치료 전에는 평균 19%로 낮은 수치를 보였으나, 치료 후 7, 8월에 점차 상승하다가, 이후 거의 정상적인 수준인 32%정도를 유지하고 있음을 관찰할 수 있었다. 그러나 치료를 하지 않았던 송아지에서는 2000년 12월까지의 20~25% 수준을 나타내고 있었으며 2001년 6월에는 30% 수준을 나타내었다.

Allele-specific PCR

Allele-PCR 을 통해서 primer 증폭 반응은 Fig. 2와 같다. 치료 전(2000년 6월)에는 세 가지 유전자형 즉, Ikeda type(826bp), Chitose type(831bp), Buffeli type(825bp)에서는 모두 PCR반응을 확인 할 수 있었고, Universal primer 를 사용한 PCR에서는 Buffeli와 같은 pattern의 DNA 증폭이 나타냈다. 한편 치료 후 7월에 Ikeda type만 반응이 나타났고 Chitose, Buffeli type과 Universal primer에서는 반응되지 않았다(Table 3, Fig 3). 특히 8월~다음해 2월까지 7개월간 Chitose type을 제외하고는 계속적인 PCR 증폭 반응을 보였다(Fig 4). 즉, Chitose type은 치료 후 사라졌다가 다음해 진드기가 출현하는 시기 전까지는 재출현하지 않고 있다가 다음 방목시기에 다시 나타났다. 한편 Ikeda type 은 berenil치료를 투여하여도 계속 관찰되었으며, 대조 송아지에서는 전 시험기간에 3가지형 모두와 Universal primer에서 모두 계속적으로 출현하

였다. 그 동안 *T. sergenti* 감염조사 목적으로 사용되어 온 Universal type의 primer에서는 치료한 후 1개월 후인 7월을 제외한 모든 기간에서 모두 관찰하였으며, Universal type primer는 Ikeda type primer와 비교하여 적혈구내 *T. sergenti*의 DNA 검출율이 낮았다.



Fig. 2. Allele-specific PCR patterns before treatment with berenil in natural infected korean calves(50% parasitemia with *T. sergenti*). PCR products were electrophoresed on 0.8% agarose gel in the presence of ethidium bromide. (lane U; Universal primer, lane I; Iketa type, lane C; Chitose type and lane B: Buffeli type)

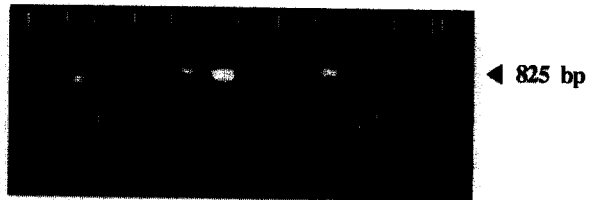


Fig. 3. The result of PCR amplification of the samples that were carried out at months 1, 3 and 5 of treatment with berenil in naturally infected calves. PCR products were electrophoresed on 0.8% agarose gel in the presence of ethidium bromide. (lane U; Universal primer, lane I; Iketa type, lane C; Chitose type, lane B: Buffeli type, and lane M: marker, lower marked were indicated AUG; August, OCT; October, DEC; December, respectively)



Fig. 4. The result of PCR amplification at one month after treatment with berenil in natural infected calves in *T. sergenti*. PCR products were electrophoresed on 0.8% agarose gel in the presence of ethidium bromide. (lane U; Universal primer, lane I; Iketa type, lane C; Chitose type and lane B: Buffeli type)

고 찰

Theileriosis, Babesiosis 그리고 Anaplasmosis와 같은 진드기 매개성 질병들은 소에서 유산, 체중 감소, 비유량 감소 등을 초래하여 양축농가에 막대한 경제적 손실을 주는 중요한 질병으로 알려져 있다. 국내에 분포한 타이레리아병은 진드기(*Hemaphysalis longicornis*)가 매개하여 전파시키는 것으로 알려져 있으며^{14,9,7}, 태반을 통한 수직 감염도 가능한 것으로 보고된 바 있다⁷. 본 질병의 일반적인 임상증상은 적혈구 산화에 의한 빈혈¹⁵, 발열, 식욕부진, 황달 등이며, 특히 임신, 분만, 착유 및 수송 등과 같은 stress, 영양부족 및 2차적인 병원체의 중복 감염시 체중 감소¹⁶, 발육부진, 비유량 저하 그리고 심한 경우 폐사 등을 야기키는 중요한 법정 전염병이다^{14,17}.

현재 Theileriosis의 원인체로는 12종이 보고되고 있으나, 이들의 분류는 형태학적, 면역학적, 매개 진드기 등에 근거한 분류가 이루어져 왔으나, 최근에는 계통분류학이 발달함에 따라서 유전자 분석을 통한 종체의 분류가 이루어지고 있는 실정이다¹⁸. 국내에서는 *T. sergenti* 항원의 특성 및 면역원성^{19,3}, 특이 항원의 polypeptide 구조와 합성시험^{19,20} 그리고 DNA probe를 이용한 진단⁸ 등에 관한 연구가 이루어진 바 있다. 한편 일본에서는 *T. sergenti*의 진단 분류를 위하여 monoclonal antibody를 만들어 면역화학적 연구를 수행한 바 있으며^{21,22}, *T. sergenti* 세포막성 32/33 kDa의 단백질을 생산하는 rRNA의 PCR primer를 제작하여 종의 계통을 분류한 바 있다^{13,5,23}. Matsuba 등^{5,6}은 *T. sergenti*의 감염시기 및 개체 동물별로 약간의 차이가 있으며, 이들 종체의 혼합감염에 기인됨을 genomic DNA fragment(pTs)와 cDNA probe를 이용한 RFLPs로 분석한 바 있으며, 이러한 차이는 *T. sergenti*의 진드기의 세포 내·외 발육 단계와 무성 및 유성 증식²⁴, 다양하면서도 특이한 형태의 생활사, 감염 적혈구의 적혈구막성 ganglioside와 총 지방결합 sialic

acid 양의 변화와 같은 생화학적 특성²⁵, 숙주의 빈혈 유발기전과 merzoites의 적혈구내 침입에 작용하는 물질, 그리고 지속적인 감염에 따른 항원성 상승 등이 *T. sergenti*의 형태학적 및 분자생물학적 동정에 직·간접적으로 관련하는 것으로 주장되고 있다.

일본에 분포하고 있는 *T. sergenti*는 유럽지역과 호주 지역의 *T. buffeli* 그리고 *T. orientalis*의 총체내 veil물질과 생화학적 성상의 비교 분석에서 차이가 있음이 보고된 바 있다²⁷. 최근 국내 일부지역의 경우 다양한 종의 유전자형 *T. sergenti*가 분포하고 있음이 증명되었다²⁸. 일본에서는 여러 지역에서 얻은 총체별로 genome상의 차이와 *T. sergenti*의 genome를 pUC-18에 삽입하여 얻은 probe를 ³²P 또는 비등위원소 물질을 이용하여 적혈구내 *T. sergenti*의 검출²⁹과 p32 cDNA clone probe를 이용한 southern blot에서 genomic diversity과 PCR에 의해 지역별 유전자 다형현상을 관찰 보고된 바 있다^{5,6}. 그러나 우리나라의 *T. sergenti*는 PCR을 이용한 동정은 이루어진 바 있으나¹³, 지역별로 유전자 표현형의 다형 현상에 관해서는 아직 구체적으로 밝혀지지 않은 상태이다.

최근 *T. sergenti*의 항원성이 유전학적으로 다른 것들과 혼합되어 있음이 보고된데 이어서 파이프롭라스마 특이면역 유발 표면항원인 p32/34의 3가지 유전자 형태를 구분하기 위하여 3가지 oligonucleotide primers를 결정하고 *T. sergenti*/*T. buffeli*/*T. orientalis*의 유전자 증폭을 위한 PCR을 실시하였던 바 극동지역에는 여러 종의 *Theileria* spp.가 혼합 감염되어 있음을 밝힌 바 있다¹⁸. 또한 *T. sergenti*와 *T. buffeli*에 대한 PCR 기법의 활용에서 *T. sergenti*의 p33 gene과 *T. buffeli*의 p34 gene를 활용하였을 때 제한효소 종류에 따라서 유전자의 증폭에 분명한 차이가 있었으며, 이들 PCR의 primer들은 *Babesia ovata*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *A. centrale*, *Eperythrozoon wenyoni* 등과 반응을 하지 않았다. 한국과 일본에 분포하고 있는 *T. sergenti*의 특이 항원단백질인 p33 kDa 막성물질 생산에 관여하는 rRNA primer를 이용한 PCR은 기존의 giemsa stain 보다 특이성이 월등히 우수하여 진단에 활용될 수 있으며, 유전자에 대한 핵산과 아미노산 구조는 99.4%과 98.9%의 일치함이 보고된 바도 있어³⁰ 현재까지의 진단 방법으로는 이 종의 분류에 대한 논쟁은 없을 것으로 판단된다.

소의 Theileriosis를 치료하기 위한 연구는 항생제³¹, imidocarb dipropionate¹¹, primaquine phosphate¹², long acting tetracycline³², berenil³³, ivermectin¹⁶ 그리고 peganum harmala alkaloid 등이 가 있는 것으로 알려져 있으며³⁴, 이 중에서 주혈기생충병을 치료하기 위하여 사용된 berenil은 소에 있어서 *T. sergenti*에 기인한 26%의

사망률을 5.9%까지 감소시키는 효과가 있지만³³ 소³⁵, 개³⁶, 당나귀³⁷, 쥐³⁸ 등의 바베시아증에 주로 사용되었다.

rRNA gene을 이용한 *Theileria* 종 분류에서 *T. buffeli*는 *T. orientalis*와 유사한 것으로 보고되고 있으며^{41,42}, 영국, 일본 그리고 호주 등에서 동정된 *T. sergenti*의 주요 MPSP sequence는 6개로 구분되고 GenBank에서 18S rRNA sequence를 근간으로 하여 *T. sergenti*, *T. buffeli* 그리고 *T. orientalis*로 구분되어 활용되며, 한국, 중국, Texas 그리고 태국에 분포하고 있는 종의 동정에 활용되고 있다²⁸. Georges⁴⁴ 등은 18S rRNA를 이용한 *T. annulata*를 포함 한 rickettsia류의 주혈기생충의 PCR reverse line blot hybridisation (RLB)를 동시에 실시하여 혼합감염 되어 있는 혈액으로부터의 진단이 가능함을 보고한 바 있으며, 본 예에서 *T. sergenti*의 type 별로 얻은 체표단백질 형성 rRNA 유전자를 이용하여 allele-specific PCR 분석을 한 결과 임실군의 산간지역에 분포하고 있는 *T. sergenti*의 형은 Kakuda²⁸ 등이 보고한 바 있는 Ikeda, Chitose, 그리고 Buffeli Type이 모두 검출되었으며, Universal primer를 이용한 PCR에서도 모두 반응하는 특색을 나타내고 있었다. 이들 3가지 type은 berenil을 투여 시 Ikeda type을 제외하고 모든 type이 혈액에서 사라졌다가 다시 출현하는 특색을 나타내었는데 이는 이 지역 진드기에 여러 type이 혼합 감염되어 있기 때문이라고 판단되며, 재감염에 따른 면역 기능이 어떤 특정 type의 *T. sergenti*의 증식을 억제하지는 못하는 것으로 판단되었다. 이상의 실험의 결과가 전북 산간지역에 분포하고 있는 *T. sergenti*는 Ikeda type, Chitose, Buffeli type 등의 3 type이 모두 혼합 감염되어 있으며, 이중 Ikeda type은 berenil에 효과가 미약하므로 완전한 치료를 위해서는 약제의 다양한 선택이 필요할 것으로 판단되었다.

결 론

전북의 산간지역의 방목하는 한우 목장에서 4~5 개 월령의 송아지가 심한 빈혈로 폐사하여 함께 방목되었던 송아지를 대상으로 diminazene aceturate(berenil) 치료를 한 후, *T. sergenti*의 특이 면역원성을 갖는 32, 33 그리고 34 kDa 총체세포막 형성 rRNA의 유전자로부터 결정된 *T. sergenti*의 Ikeda type, Chitose type, Buffeli type 그리고 Universal primer의 5'-forward primer와 3'-reverse primer를 각기 교차시켜, allele-specific PCR을 실시하여 출현하는 유전자형을 확인하였던 바, 치료 전에는 이들 모든 types의 primer로 3 type의 양성 반응을 가져왔으나 치료한 후에는 Chitose type은 치료 직후부터 다음해 2월

까지 Buffeli type과 Universal type은 치료직후인 7월에만 출현하지 않았으나, Ikeda type은 계속적으로 출현하고 있었다. 이상의 결과로서 국내 산간지역에서 발병되고 있는 *T. sergenti*의 type은 3가지형이 혼합되어 있음과 diminazene aceturate(berenil)은 Chitose와 Buffeli type에는 효과를 나타내지만 Ikeda type에는 구충효과가 나타나지 않음을 밝힐 수 있었다.

참고문헌

1. Irvin AD. Characterization of species and strains of *Theileria*. *Adv Parasitol*, 26:145-197, 1987.
2. Minami T, Fujinaga T, Furuya K, et al. Clinico-hematologic and serological comparisons of Japanese and Russian strains of *Theileria sergenti*. *Nat Inst Anim Health Q*, 20:44-52, 1980.
3. Baek BK, Choi IH, Kim BS, et al. Immunogenicity and protective efficacy of solubilized merozoite-enriched *Theileria sergenti* immunogens. I. Protection against homologous stabilate challenge. *Kor J Parasitol*, 30:133-140, 1992.
4. Kubota S, Sgimoto C, Kakuda T, et al. Analysis of immunodominant piroplasm surface antigen alleles in mixed populations of *Theileria sergenti* and *T. buffeli*. *Int J Parasitol*, 26:741-747, 1996.
5. Matsuba T., Sugimotos C., Onoe S, et al. Changes in hybridization patterns of population of *Theileria sergenti* during infection. *Vet Parasitol*, 47:215-223, 1993.
6. Matsuba T, Kuboto H, Tanaka M, et al. Analysis of a mixed parasite population by using cDNA probes encoding a major piroplasm surface protein of *Theileria sergenti*. *Parasitology*, 107:369-377, 1993.
7. 백병걸, 임병무, 이우종 등. 신생송아지에 있어서 *Theileria sergenti*의 감염에 관한 연구. 대한수의학회지, 33:665-671, 1993.
8. 김명철, 이주목, 권오덕 등. *Theileria sergenti* DNA probe를 만들기 위한 기초 연구. 대한수의학회지, 33:479-486, 1993.
9. 강영배, 장항. 비장적출 송아지에 있어서 *Haemaphysalis longicornis* 진드기를 통한 *Theileria sergenti* 감염증 인공 유발 시험. 농시보고, 31:48-53, 1989.
10. 강영배, 김상희, 장항 등. *Theileria sergenti* 야외주에 대한 정상 조사: 접종 전 비우에 있어서의 혈액학적 소견 및 pamaquine 처리 효과. 농시보고, 30:17-21,

- 1988.
11. Purnell RE & Rae MC. The use of imidocarb dipropionate for the treatment of *Theileria sergenti* infections of cattle. *Aust Vet J*, 57:224-226, 1981.
 12. Purnell RE, Rae MC, Deuk SM. Efficacy of imidocarb dipropionate and primaquine phosphate in the prevention of tick-borne disease in imported Hereford heifers in South Korea. *Trop Anim Health Prod*, 13:123-127, 1981.
 13. Tanaka M, Onoe S, Matsuba T, et al. Detection of *Theileria sergenti* infection in cattle by polymerase chain reaction amplification of parasite-specific DNA. *J. Clin Microbiol*, 31:2565-2569, 1993.
 14. 한태우. 우리나라 축우의 소위 piroplasma병에 관한 연구. III. 소위 소형 piroplasma원충의 전자현미경학적 관찰. 가축위생연구소보, 14:103-107, 1971.
 15. Shiono H, Yaki Y, Thongnoon P, et al. Acquired methemoglobinemia in anemic cattle infected with *Theileria sergenti*. *Vet Parasitol*, 102:45-51, 2001.
 16. Yamane I, Arai S, Nakamura Y, et al. A clinical trial to evaluate the effects of flumethrin or ivermectin treatment on hemoparasites, conception and daily weight gain in a dairy farm in Japan. *Prevent Vet Med*, 43:203-210, 2000.
 17. 서명득, 김배정, 이병도. 소의 파이로플라즈마병에 관한 연구. 농시보고, 13: 81, 1972.
 18. Onuma M, Kakuda T, Sugimoto C. *Theileria* parasite infection in east Asia and control of the disease. *Comparat Immunol, Microbiol & Infect Dis*, 21:165-177, 1998.
 19. 백병걸, 정재명, 김병수. *Theileria sergenti* merozoite로부터 합성한 polypeptide vaccine의 예방효과. 대한수의학회지, 36:453-461, 1996.
 20. Baek BK, Kim BS, Rhim BM, et al. Immunogenicity and protective efficacy of solubilized merozoite-enriched *Theileria sergenti* immunogens. III. Characterization of immunodominant peptides. *Kor J Parasitol*, 32:111-116 1994.
 21. Kobayashi N, Onuma M, Kirisawa R, et al. Monoclonal antibodies against intraerythrocytic merozoites(piroplasma) of *Theileria sergenti*. *Jpn J Vet Sci*, 49:697-702, 1987.
 22. Shirakata S, Onuma M, Kirisawa R, et al. Localization of surface antigens on *Theileria sergenti* merozoite by monoclonal antibodies. *Jpn J Vet Sci*, 51:831-933, 1989.
 23. Onuma M, Kubota S, Kakuda T, et al. Vaccine development against *Theileria* parasite. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 28: 148-154, 1997.
 24. Higuchi S., Kawamura S. and Yasuda Y. Scanning electron microscopy of *Theileria sergenti*. *Jpn J Vet Sci*, 47:133-137, 1985.
 25. Watarai S, Sugimoto C, Onoe S, et al. Alteration of ganglioside composition in the erythrocytes associates with *Theileria sergenti* infection. *J Vet Med Sci*, 56:841-847, 1994.
 26. 백병걸, 김병수, 이호일. 한우에 감염된 *Theileria sergenti* merozoite의 미세구조. 대한수의학회지, 30:465-471, 1990.
 27. Sugimoto C, Kawazu S., Kamio T, et al. Protein analysis of *Theileria sergenti/buffeli/orientalis* piroplasms by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Parasitology*, 102:341-346, 1991.
 28. Kakuda T, Kubota S, Sugimoto C, et al. Analysis of immunodominant piroplasm surface protein genes of benign *Theileria* parasites distributed in china and korea by allele-specific polymerase chain reaction. *J Vet Med Sci*, 60:237-239, 1998.
 29. Kajiwara N, Kirisawa R, Onuma M, et al. Specific DNA probe for the detection of *Theileria sergenti* infection in cattle. *Nippon Juigaku Zasshi*, 52:1199-1204, 1990.
 30. Kang SW, Choi EJ, Kweon CH. Cloning and sequencing of p33 on a Korean isolate of *Theileria sergenti*. *Kor J Parasitol*, 35:105-110, 1997.
 31. McColm AA, McHardy N. Evaluation of a range of antimicrobial agents against the parasite protozoa, *Plasmodium falciparum*, *Babesia rodhaini* and *Theileria parva* in vitro. *Ann Trop Med Parasitol*, 78: 345-354, 1984.
 32. Purnell RE, Gunter TD, Schroder J. Development of a prophylactic regime using long-acting tetracycline for the control of redwater and heartwater in susceptible cattle moved into an endemic area. *Trop Anim Health Prod*, 21:11-19, 1989.
 33. Ding X, Yin P, Jiang F, Jiang Y. Ticks and tick-borne bovine piroplasmosis in the Southmountain pasture of Human Province, China. *Trop Anim Health Prod*, 29:23S-26S, 1997.
 34. Liang Fan B, Men J, Gao F, et al. Effect of total alkaloid of *Peganum harmala* L. in the treatment of

- experimental haemosporidian infections in cattle. *Trop Anim Health Prod*, 29:77S-83S, 1997.
35. Sharma SP & Bansal GC. Chemoprophylaxis with diminazene aceturate in experimental *Babesia bigemina* infection in cattle. *Res Vet Sci*, 37:126-167, 1984.
 36. Milner RJ, Reyers F, Taylor JH, et al. The effect of diminazene aceturate on cholinesterase activity in dogs with canine babesiosis. *J S Afr Vet Assoc*, 68:111-113, 1997.
 37. Kyewalabye Kaggwa E & Lawal IA. *Babesia equi* and *Trypanosoma vivax* infections in donkeys. *Rev Elev Med Vet Pays Trop*, 42:205-210, 1989.
 38. Akiba M, Saeki H, Ishi T, et al. Immunological changes in *Babesia rodhaini* infected BALB/c mice after treated with anti-babesial drug, diminazene aceturate. *J Vet Med Sci*, 53: 371-377, 1991.
 39. Sparagano O, Loria GR, Gubbels MJ, et al. Integrated molecular diagnosis of *Theileria* and *Babesia* species of cattle in Italy. *Ann N Y Acad Sci*, 916:533-539, 2000.
 40. Gubbels JM, DE Vos AP, Van Der Weide M, et al. Simultaneous detection of bovine *Theileria* and *Babesia* species by reverse line blot hybridization. *J Clin Microbiol*, 1782-1789, 1999.
 41. Allsopp BA, Bayliss HA, Allsopp MTEP, et al. Discrimination between six species of *Theileria* using oligonucleotide probes which detect small-subunit ribosomal RNA sequences. *Parasitology*, 107:157-165, 1993.
 42. Bishop R, Allsopp B, SpoonerP, et al. *Theileria*: improved species discrimination using oligonucleotides derived from large-subunit ribosomal RNA sequences. *Exp Parasitol*, 80:107-115, 1995.
 43. Kawazu S, Kamio T, Sekizaki T, et al. *Theileria sergenti* and *T. buffeli*: polymerase chain reaction-based marker system for differentiating the parasite species from infected cattle blood and infected tick salivary. *Exp Parasitol*, 81:430-435, 1995.
 44. Georges K, Loria GR, Rili S, et al. Detection of haemoparasites in cattle by reverse line blot hybridisation with a note on the distribution of ticks in Sicily. *Vet Parasitol*, 99:273-286, 2001.