

젖소의 *Leptospira*균에 대한 혈청학적 조사

전화진 · 배춘식 · 조용성 · 장경진¹
건국대학교 축산대학 수의학과

Serological Study on Leptospirosis in Dairy Cattle

Hak-Jin Jeon, Chun-Sik Bae, Yong-Seong Cho and Kyung-Jin Chang¹
Department of Veterinary Medicine, College of Animal Husbandry,
Kon-Kuk University, Seoul, 143-701, Korea

ABSTRACT: This experiment was performed to investigate the leptospiral antibody in dairy cattle with serological test in three areas of Kangwondo from February to June, 1995. Twelve different living antigen's (*L icterohemorrhagiae*, *L pomona*, *L hardjo*, *L australis*, *L canicola*, *L autumnalis*, *L grippityphosa*, *L tarassovi*, *L pyrogenes*, *L bataviae*, *L hebdomadis* and *L ballum*) of *Leptospira interrogans* were used for the serological test in dairy cattle. The blood samples of 130 cattle were examined by microscopic agglutination test. Among the serum samples of the dairy cattle, 5 heads of the dairy cattle (3.8%) were positive. Among the positive samples of 5 heads, 3 heads of dairy cattle (2.3%) showed the antibody of *L canicola*, 2 heads of dairy cattle (1.5%) showed the antibody of *L icterohaemorrhagiae*. Positive rate by age was 0% (≤ 2 year), 4.6% (3~4year) and 6.6% (≥ 5 year).

Key words: serological test, leptospirosis, antibody, dairy cattle

서 론

렙토스피라병은 일반적으로 Weil병으로 알려져 있으며, 출혈성 황달(hemorrhagic jaundice), 스피로헤타병(spirocheta disease), 출혈성 간염(hemorrhagic hepatitis) 등으로 불리우기도 하는 세균성 질병이다^{31,32}.

본 병은 사람과 가축에서 광범위하게 감염되는 급·만성 전염병으로서 전 세계적으로 발생되고 있으며^{2,6,24,25,26}, 그 중에서도 소의 경우에는 혈색소뇨, 빈혈, 황달, 유사산 등의 주요 증상을 나타내는 아급성 만성 전염병으로서 그 피해도 큰 것으로 알려져 있다^{7,8,11,16,31}.

한편, 1975년 가을 경기, 강원, 충북 지역 주민들을 중심으로 급성 고열성 질환인 유행성 폐출혈열(잠정 명칭)이 크게 유행하였는 바, 고열, 오한, 전신 쇠약감, 심한 근육통, 각혈, 호흡곤란 등의 증상과 함께 높은 사망율을 보였으나 그 원인균을 밝혀내지 못하다가²⁷ 1984년 다시 전국적으로 유행하면서 이 질병의 원인균이 렙토스피라인 것으로 확인되었으며, 인수공통 전염병으로서 본 병의 중요성이 인식되면서 전 국민적인 관심이 집중된 바 있다^{25,26,30,35}.

본 병은 1986년 Weil씨가 처음 발견하였으며, 1915년 Inada¹²가 균배양에 성공하였고, 국내에서는 1919년 Takaki²⁰가 죽은 족제비에서 처음 *L icterohemorrhagiae*를 분리하였다.

1940년에는 Jin과 Nishimura¹³가 대구지역에서 포획한 20마리의 쥐 혈청에 대한 *Leptospira* 항체검사를 한 결과 *L hebdomadis*와 *L febrilis*에 각각 1건 씩 반응하였다고 보고하였다. Sekiguchi¹⁹는 1942년에 경상북도에서 개, 쥐, 사람을 대상으로 *Leptospira*균 분리를 시도한 바 개와 사람에서 *L canicola*를 분리하였고, 그 후 혈청검사에서 *L icterohemorrhagiae*, *L canicola*, *L hebdomadis* 항원과 반응하였다.

렙토스피라는 병원성인 *L interrogans*와 비병원성인 *L biflexa*로 분류되며 *L interrogans*는 19개 혈청군 180여 혈청형으로 분류된다^{9,14,34}. 균체의 모습은 오른쪽 방향의 미세한 나선형으로서 그 직경이 0.1 μm 이고 길이는 6~15 μm 까지 다양하며, 나선의 수가 18개 혹은 그 이상이고 나선간의 거리는 0.5 μm 인 것으로 알려졌다. 오른쪽 나선형 이외에도 장간형, 구형 등의 형태도 보고된 바 있다^{4,5,18}.

렙토스피라균은 가축이나 여우, 스컹크, 너구리, 설치류 등 야생동물의 신장에 머무르며, 약 3개월에서

¹Corresponding author.

일생동안 균을 배설하는 것으로 알려져 있으며, 배설된 뇨가 자연환경을 오염시켜 오염된 물, 흙, 채소 등에 간접접촉하므로써 주로 전파되는 것으로 알려져 있다.^{28,30,35}

렙토스피라병에 대한 가장 보편적인 혈청학적 진단 방법은 암시야 현미경을 이용한 현미경 응집반응이며,³ 그 외에도 혈구응집검사, 보체결합검사, 효소면역 측정법 등 다수가 있다.^{1,10,15,17,21}

본 연구는 강원도 지역의 젖소에서의 렙토스피라속 균의 분포 및 혈청형을 조사하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

공시혈청

강원 3개 지역(춘천, 홍천, 화천)에서 사육 중인 6개월 이상된 젖소 130두를 대상으로 1995년 2월부터 6월 사이에 Table 1과 같이 채혈하였다.

혈청 검사를 위하여 경정맥에서 혈액 3 ml을 채혈하여 실험실로 옮겨 즉시 혈청을 분리 56°C에서 30분간 비동화시켜 동결 보존하여 사용하였다.

공시항원

본 조사를 위하여 12종의 렙토스피라 표준 항원 즉, *L. australis*, *L. hardjo*, *L. canicola*, *L. pomona*, *L. icterohemorrhagiae*, *L. ballum*, *L. autumnalis*, *L. grippityposa*, *L. tarassovi*, *L. pyrogenes*, *L. hebdomadis* 및 *L. bataviae* 를 사용하였다.

혈청검사

본 검사는 현미경 응집반응(microscopic agglutination test: 이하 MAT라 약함)을 이용했다. 이 반응에 사용된 항원은 EMJH 배지에 1주일간 배양된 것을 암시야 현미경으로 200배율에 경검하여 그대로 사용하거나 균수가 많을 때에는 한 시야당 $3\sim 5 \times 10^2$ cfu로

희석하여 사용하였다.

시험관에서 1:50으로 희석한 가검혈청을 microplate에서 1:100으로 항원과 희석시켜 28°C에서 1 1/2~2시간 감작시킨 다음 200배율의 암시야 현미경으로 조사하였으며, 판정기준은 응집의 정도에 따라서 다음과 같이 나누었다.

- 1) 4: 100% agglutination : No free leptospirae seen
- 2) 3: 75% agglutination : few free leptospirae seen
- 3) 2: 50% agglutination : approx, 1/2 agglutinated, and 1/2 leptospirae
- 4) 1: 25% agglutination : few less leptospirae than control
- 5) 0: 5% agglutination : as control

혈청희석 1:100에서 50% 응집을 보이는 것을 양성으로 판정하였다.

결과 및 고찰

강원 3개 지역(춘천, 홍천, 화천)에서 총 130두의 젖소 혈청을 1995년 2월부터 6월 사이에 채혈하여 렙토스피라 혈중 항체를 현미경 응집반응으로 검사한 결과는 Table 2와 같다.

혈청희석배수 1:100에서 50% 이상 응집이나 용균을 나타내는 것을 양성으로 판정하였다. 그 결과 춘천 75두 중 3두, 홍천 30두 중 1두, 화천 25두 중 1두 총 130두 중 5두(3.8%)가 양성반응을 나타내었다. 그 혈청형 및 항체가는 Table 3과 같다.

양성으로 판정된 5예 중 *L. canicola*가 3예(2.3%), *L.*

Table 1. Samples collected from Kangwondo provinces for bovine leptospirosis

Animal tested	District	No. of examined	Age		
			≤2year	3~4year	≥5year
Dairy cattle	Choon chun	75	15	40	20
	Hong chun	30	10	15	5
	Wha chun	25	10	10	5
Total		130	35	65	30

Table 2. Distribution of leptospiral antibody to dairy cattle in Kangwondo provinces

Animal tested	District	No. of examined	No. of positive (%)
Dairy cattle	Choon chun	75	3
	Hong chun	30	1
	Wha chun	25	1
Total		130	5(3.8%)

Table 3. Serotype and titer of positive serum for leptospira

Serotype	Titration			
	1:100	1:200	1:400	1:800
<i>L. icterohemorrhagiae</i>	1	0	1	0
<i>L. canicola</i>	1	1	1	0
Total	2	1	2	0

Table 4. Seropositive rate by age

Age	No. of tested	No. of positive
≤ 2 year	35	0 (0)
3~4 year	65	3 (4.6)
≥ 5 year	30	2 (6.6)
Total	130	5 (3.8)

*icterohemorrhagiae*가 2예(1.5%)로 나타났으며, 항체가는 1:400 이하로 낮은 수준이었다.

연령별 항체 양성율은 Table 4와 같다.

연령별 양성율은 2세 이하에서는 나타나지 않았고, 3~4세 65두 중 3두(4.6%), 5세 이상 30두 중 2두(6.6%)가 양성율을 보였다.

현재 우리나라 젖소에서 밝혀진 렙토스피라 혈청형은 *L. canicola*, *L. pomona*, *L. tarrasovi*, *L. icterohemorrhagiae*, *L. hebdomadis*, *L. grippityposa*, *L. pyrogenes* 등으로 알려져 있다^{29,32,33}.

1972년 석 등²⁹이 보고한 젖소의 leptospira혈중항체 조사결과 양성율이 13%였고, 그 혈청형은 *L. icterohemorrhagiae*, *L. hebdomadis*, *L. pomona*, *L. canicola*, *L. tarrasovi*였으며, 농촌진흥청 연구보고서³³에서 발표된 타 지역의 젖소 렙토스피라 양성율 및 혈청형과 본 조사 성적의 비교는 Table 5와 같다.

경기 3.9%, 충북 7.6%, 전북 0%, 전남 3.3%, 경남 1.3% 그리고 강원이 3.8%로 나타났으며, 혈청형의 분포는 *L. canicola*, *L. grippityposa*, *L. icterohemorrhagiae*, *L. pyrogenes* 4종의 분포를 나타내고 있다. 강원지역의 경우 혈청형에 있어서 타지역과 유사했으며, 양성율은 경기지역과 비슷했다.

우리나라 가축 및 들쥐에 분포하는 혈청형은 *L. icterohemorrhagiae*, *L. canicola*가 대부분이며, *L. australis*, *L. hardjo*, *L. pomona*, *L. ballum*, *L. autumnalis*, *L. grippity-*

posa, *L. pyrogenes* 등 9종이 분포하고 있다고 보고되어 있으나^{29,32,33}, 실제로 젖소에서 렙토스피라군을 분리하기는 매우 힘든 것으로 사료된다.

참고로 국내에서 렙토스피라군의 분리율을 살펴보면 Table 6과 같다.

젖소의 신장 27예, 유즙 356예에서 균 분리를 시도하였으나 분리되지 않았고 돼지 192두, 개 177두 및 쥐 39수의 신장으로부터 각각 4(2.1%), 3(1.7%), 2(5.1%)의 렙토스피라군이 분리되었다³⁴.

반면에 미국, 캐나다, 영국 등의 경우 젖소의 렙토스피라 혈청형은 *L. hardjo*, *L. pomona*가 주종을 이루고 있다고 알려지고 있으며^{7,8,9,16,23} *L. hardjo*의 경우 현저한 비유량의 감소를 유발시키는 유방염을 일으키는 것으로 보고되어 있다^{11,22,31}.

렙토스피라 혈청형의 분포는 유행지역 및 숙주에 따라 서로 다른 것으로 알려지고 있으며 지역의 기후와도 연관되어 있을 것으로 추측되고 있다^{2,6,9,16,32,34}.

렙토스피라군은 자연상태에서 생존하기 위하여 수분이 필수적 요건이므로 이와 관련된 오염환경에 유의하는 것이 본 병 예방에 중요한 일이다.

Table 6. Isolation of *Leptospira interrogans* from domestic animals and rats*

Animals examined	Specimen	No. of samples	No. of isolates (%)
Cattle	Kidney	27	0(0.0)
	Milk	356	0(0.0)
Pigs	Kidney	192	4(2.1)
Dogs	Kidney	177	3(1.7)
Rats	Kidney	39	2(5.1)
Total		791	9(1.1)

*농촌진흥청 농가시험연구 논문집 가축위생편 1991; 33: 3

Table 5. Comparison of serological test on leptospirosis in other district*

Districts	No. of examined	No. of positive	Serotypes			
			Canicola	Grippityphosa	Icterohemorrhagiae	Pyrogenes
Kangwon	130	5(3.8)	3	0	2	0
Kyonggi	103	4(3.9)	2	0	0	2
Chungbuk	79	6(7.6)	2	0	2	2
Chonbuk	16	0	0	0	0	0
Chonnam	122	4(3.3)	3	0	1	0
Kyongnam	78	1(1.3)	0	1	0	0
Total	528	20	10	1	5	4

*농촌진흥청 농가시험연구 논문집 가축위생편 1990; 32: 3

결 론

강원지역 젖소에 대한 렙토스피라 혈청형 분포상황을 파악하기 위하여 3개 지역에서 6개월 이상 사육된 젖소 130두에 대한 혈청항체를 *L. australis*, *L. hardjo*, *L. canicola*, *L. pomona*, *L. icterohemorrhagiae*, *L. ballum*, *L. autumnalis*, *L. grippotyposa*, *L. tarrasovi*, *L. pyrogenes*, *L. hebdomadis*, *L. bataviae* 12종의 항원을 이용하여 현미경 응집반응으로 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 젖소 130두 중 양성우는 5두로써 3.8%의 양성율을 보였다.
2. 양성우의 혈청형은 *L. icterohemorrhagiae*가 2두(1.5%), *L. canicola*가 3두(2.3%)이었다.
3. 연령별 항체 양성율은 2세 이하 35두에서는 나타나지 않았고, 3~4세 65두 중 4.6% (3두), 5세 이상 30두 중 6.6%(2두)이었다.

참고문헌

1. Adler B, Faine S, Gordon LM. The enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) as a serological test detecting antibodies against *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* in sheep. Aust Vet J 1981; 57: 414.
2. Bahaman AR, Ibrahim AL. Serological and bacteriological study of leptospiral infection in a cattle herd in Malaysia. Vet Rec 1986; 119: 325-326.
3. Cole JR, Suzer CR, Russell AR. Improved micro-technique for the leptospiral microscopic agglutination test. Appl Microbiol 1973; 25: 976-980.
4. Czekalowski JW. Electron microscope study of leptospira, Antonie van Leewenhoek. J Microbiol Serol 1963; 29: 29.
5. Czekalowski JW, Eaves G. Formentation of granular structure by leptospirae as revealed by electron microscope. J Bacteriol 1954; 69: 129.
6. Ellis WA, Macparland PJ, Bryson DG, Cassells JA. Prevalence of leptospira infection in aborted pigs in Northern and Irel. Vet Rec 1986; 118: 63-65.
7. Ellis WA, Michna SW. Bovine leptospirosis: Infection by the hebdomadis serogroup and abortion. A herd study. Vet Rec 1976; 99: 409-412.
8. Ellis WA, O'Brien JJ, Neill SD, Hanna J. Bovine leptospirosis serological finding in aborting cows. Vet Rec 1982; 110: 178-180.
9. Faine S. Guidelines for the control of leptospirosis. Geneva: WHO. 1982: 71-73.
10. Galton MM, Powers OK, Hall AD, Cornell RG. A rapid macroscopic slide screening test for the serodiagnosis of leptospirosis. Am J Vet Res 1958; 19: 505-512.
11. Higgins RJ, Harbourne JF, Little TWA, Stevens AE. Mastitis and abortion in dairy cattle associated with leptospira of the serotype hardjo. Vet Rec 1980; 107: 307-310.
12. Inada R, Ido Y, Hoki R, Kaneko R, Ito H. The etiology, mode of infection and specific therapy of Weils disease. J Exp Med 1916; 23: 377.
13. Jin RK, Nishimura NI. Microscopic leptospira agglutination test in rats. Reports of Tae Gu Medical School. 1940; 2: 87.
14. Johnson RC, Fains. Family 2, leptospira in Bergey's editted by Krig, RL. and Holt, JG. W. and W, Baltimore. 1984; I: 62.
15. Palit A, Gulaskharam J. Genus specific leptospiral antigen its possible use in laboratory diagnosis. J Clin Path 1973; 26: 3.
16. Prescott JF, Miller RB, Nicholson VM, Martin SW, Lesnik T. Seroprevalence and association with abortion of leptospirosis in cattle in ontario. Can J Vet Res 1988; 52: 210-215.
17. Randall R, Wetmore PW, Warner AR. Sonic-vibrated leptospirae as antigens in the complement fixation test for the diagnosis of leptospirosis. J Lab Clin Med 1949; 34: 1411.
18. Ritchie AE, Ellinghausen HC. Electron microscopy of leptospirae, I. Anatomical features of *Leptospira pomona*. J Bacteriol 1965; 89: 233.
19. Sekiguchi I. On the leptospirosis distributed in Kyung Sang Buk Do. J Bact Japan 1942; 552: 164.
20. Takaki I. J Chosen Med. 1920; 28: 109.
21. Thiermann AB, Garrett LA. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* and *pomona* in cattle. Am J Vet Res 1983; 44: 884.
22. Tsugimoto M, Kida H, Yanagawa R, Inui S. *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* infection in cows of Hokkaido, Japan-serological evidence. Jpn J Vet Sci 1983; 45(6): 811-814.
23. White FH, Sulzer KR, Engel RW. Isolations of *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*, *balcanica* and *pomona* from cattle at slaughter. Am J Vet Res 1982; 43(7): 1172-1173.
24. 강승원. 가축의 렙토스피라병. 대한수의사회지 1986; 22(3): 156.
25. 국립보건원. 한국에서 유행하는 렙토스피라증에 관한 연구(1). 1986: 59-108.
26. 국립보건원. 한국에서 유행하는 렙토스피라증에 관한 연구(2). 1987: 99-113.
27. 노염무, 육순제, 윤홍진, 최정수, 조환구, 한봉섭, 김근상, 박찬일, 한홍식. 급성 폐출혈열. 대한의학협회지 1976; 19: 315.
28. 대한수의공중보건학회, 수의공중보건학. 서울: 문운

- 당. 1982: 287.
29. 석호봉, 이현수, 김배정. 젖소 렙토스피라속균의 혈청학적 연구, 시험연구보고서(가축위생연구소). 1972: 33-36.
 30. 이원영, 이봉기, 김주덕, 김정순, 김상옥. 폐렴양 출혈열 환자로부터 분리된 *Leptospira*의 세균학적 병인론적 증명. 한국역학회지 1984; 6(1): 36-46.
 31. 이현범. 가축질병학. 서울 : 유한문화사. 1986: 259.
 32. 이태윤, 박전환, 엄정관, 이봉기, 이원영, 김주덕, 윤정구, 한규웅. 한국에서 분리된 렙토스피라균의 배양조건에 따른 형태 변화. 대한미생물학회지 1989; 22(3): 209.
 33. 정석찬, 김종만, 박정문, 최원필. 렙토스피라 속균에 대한 가축의 혈중항체 조사. 농촌진흥청 농가시험연구 논문집 가축위생편 1990; 32(3): 1-8.
 34. 정석찬, 김종만, 박정문, 최원필. 동물에서 분리된 *Leptospira*균의 생화학적 특성에 관한 연구. 농촌진흥청 농가시험연구 논문집 가축위생편 1991; 33(3): 1-10.
 35. 조규장. 사람과 동물의 *Leptospirosis*에 대하여. 대한수의사회지 1987; 23(11): 712.