



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](#)

석사학위논문

제주도 지빠귀과 조류의 흡혈절지동물
매개 질병



제주대학교 대학원

수의학과

오 미 래

2015년 2월


제주도 지빠귀과 조류의 흡혈절지동물
매개 질병

지도교수 윤 영 민

오 미 래

이 논문을 수의학 석사학위 논문으로 제출함

2014년 12월

 제주대학교 중앙도서관
오미래의 수의학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 _____ (印)

위 원 _____ (印)

위 원 _____ (印)

제주대학교 대학원

2014년 12월

Blood-sucking Arthropod Borne Diseases in Thrushes (Family Turdidae) in Jeju

MiRae Oh

(Supervised by professor YoungMin Yun)

Department of Veterinary Medicine,
Graduate School, Jeju National University

Abstract

Anaplasmosis and Ehrlichiosis are rickettsial zoonosis carried by the blood-sucking arthropod such as ticks, louse flies, and mosquitoes etc. *Haemoproteus* spp., *Leucocytozoon* spp. and *Plasmodium* spp. are carried by mosquitoes and louse flies, and They are parasitic bacteria in cells, which invades blood cells or tissues of poultry or wild birds and a cause of avian malaria. A migratory bird is a host of a various of the blood-sucking arthropod. The infection rates of thrushes in Jeju are high, which is carried by the blood-sucking arthropod such as ticks. So this study is supposed to research the infection rates of thrushes diseases carried by blood-sucking arthropod in Jeju and identify which species cause the diseases. Also, I finds out the difference of the infection rates between individuals moving northward in spring and others moving southward in fall and winter.

The sample is based on 116 samples captured on Mara-Island and

14 ones from Jeju Wildlife Rescue Center. Of the total 130 blood samples, 76 samples are from the spring season, 54 samples are from the fall and winter season.

The result of the study is that all the individuals (2 Japanese thrushes, 1 white's thrush, 4 pale thrushes) are infected with *Anaplasma Phagocytophilum*, and a pale thrush are infected with *Ehrlichia chaffensis*. the infection rate of *Anaplasma/Ehrlichia* spp. is 6.2% (8/130), which is an individual moving northward in spring. In case of *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp., 41 individuals (2 Grey-backed thrushes, 5 white's thrushes, 3 Eye-browed thrushes, 2 Brown-headed thrushes, 2 Siberian thrushes, 27 pale thrushes) are infected, and the infection rate is 31.5% (41/130). In this case, there is little difference between individuals in northward migrant (31.6%) and southward migrant (31.5%).

These result suggests that many of thrushes dropping by Jeju spread diseases by the blood-sucking arthropod, and they might be carriers of other migratory birds' diseases, so it is needed to monitor whether the transmission to a migratory bird, a resident bird, or domestic animal or not.

Key words: Turdidae, Blood-sucking arthropod borne diseases, Ticks, Louse flies, Jeju

목 차

영 문 초 록

I. 서	론	1
II. 재료 및 방법	3
III. 결	과	8
IV. 고	찰	21
V. 결	론	24
VI. 참 고 문 헌	25



I. 서 론

조류는 다양한 바이러스, 세균, 원충성 인수공통질병 등을 유발할 수 있는 매개체이자 보균자이며[4], 조류에 기생하는 흡혈성 절지동물(진드기, 이파리 등) 역시 각종 질병의 중요한 매개체이다. 철새의 경우 장거리를 이동하는 특성이 있기 때문에 넓은 지역에 걸쳐 이러한 흡혈성 절지동물 및 그들이 매개하는 질병을 전파할 수 있는 가능성이 있다[17, 22]. 조류에서 다양한 흡혈성 절지동물 매개 전염성 질병 중에서 진드기에 의해 매개되는 Anaplasmosis와 Ehrlichiosis [2, 10, 13], 모기나 이파리 등에 의해 매개되는 *Haemoproteus* /*Leucocytozoon*/*Plasmodium* spp.[2, 6] 등이 있다.

Anaplasmosis 및 Ehrlichiosis는 흡혈성 절지동물인 진드기 등에 의해 매개되는 인수공통전염병으로서, 세포내 기생성 세균(obligate intracellular tick-borne bacterium)으로 알려진 *Anaplasma*, *Ehrlichia* 속 세균에 의해 발생한다. *Anaplasma* 속은 *A. phagocytophilum*, *A. bovis*, *A. centrale*, *A. marginale*, *A. ovis*, *A. platys* 등의 6개의 종으로 구분되며[8], *Ehrlichia* 속은 3개의 genogroup으로 (*E. canis* group, *E. phagocytophila* group, *E. sennetsu* group) 구분된다[5, 25].

Haemoproteus/*Leucocytozoon*/*Plasmodium* spp.은 주로 모기, 이파리 등에 의해 매개되며 많은 가금이나 야생조류의 조직 및 혈액세포 내에 침입하는 세포내 기생성 세균으로 조류 말라리아의 원인체이다[6, 9]. *Haemoproteus* 속에는 가금 또는 야생 비둘기에 기생하며 전세계적으로 분포하는 *H. columbae*, 가금 또는 야생 칠면조가 숙주이며 북미에 분포하는 *H. meleagridis* 등이 있다. *Leucocytozoon* 속에는 주로 닭, 오리, 가금류에서 빈혈을 일으키는 *L. sambon*, *L. caulleryi*, *L. simondi* 등이 있다. *Plasmodium* 속에는 카나리아를 포함한 참새목에 발생하는 *P. cathemerium*, 비둘기, 오리에 많이 발생하고 특히 비둘기에 치명적인 *P. relictum* 등이 있다[2].

지빠귀과(Family Turdidae)는 참새목(Order Passeriformes)에 속하는 조류로서 이들은 주로 봄과 가을철에 북상 또는 남하하기 위해 우리나라를 거쳐 가는 나그네새이거나 봄철에 동남아시아, 일본 등 남쪽으로부터 찾아와 우리나라에서 번식하고 가을에는 다시 남쪽으로 이동하는 대표적인 이동철새이다[1].

많은 철새들 중에서 지빠귀과(Family Turdidae) 조류는 주로 지상에서 먹이를 구하는 습성 때문에 다른 새들의 비해 진드기 등 외부기생충 감염률이 높은 경향이 있다. 유럽에서는 대륙검은지빠귀(Blackbirds, *Turdus merula*)가 진드기의 중요한 숙주로 작용하고 있음이 밝혀져 있다[10]. 진드기는 수많은 병원체를 매개하며, 국내의 한 연구결과에 따르면, 철새에서 채집한 진드기 *Haematophysalis flava*에서 *Anaplasma* 및 *Ehrlichia* spp.가 확인되었고, *Ixodes* spp. 및 *H. longicornis*로부터 *A. phagocytophilum*, *A. bovis*, *A. centrale*, *A. platys*, *E. chaffeensis*, *Borrelia* spp. 그리고 *Bartonella* spp.가 검출된 바 있다[16, 20]. 미국에서는 지빠귀과의 일종인 American robin (*Turdus migratorius*)에서 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.이 검출되었으며[18], 올빼미목 조류에서도 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.이 확인되었다[14]. 일본에서는 찌르레기(White-cheeked starling, *Sturnus cineraceus*) 큰부리까마귀(Large-billed crow, *Corvus macrorhynchos*) 등에서 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.이 확인되었다[19]. 이러한 사실들은 야생 조류가 다양한 흡혈절지동물의 숙주로서 크게 작용하기 때문에 많은 병원체들과 밀접하게 연관되어 있음을 나타내며, 이동성 철새들이 장거리에 걸쳐 흡혈성절지동물 매개 질병을 전파할 수 있다는 부분을 시사해 준다. 국내에서 대부분의 연구는 조류에 감염된 외부기생충에 대한 연구가 대부분이며, 이동성 조류를 대상으로 혈액 내 직접 감염을 조사한 경우는 거의 없었다.

따라서 본 연구에서는 철새 개체 중 흡혈절지동물 매개 질병의 감염 가능성이 높은 것으로 추정되는 지빠귀과 조류에 대해서, 봄과 가을철 제주도 및 마라도를 통과하는 개체를 대상으로 혈액 중 *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 및 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.의 감염여부를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 대상동물 및 시료

시료는 2011년 11월부터 2014년 11월까지 봄과 가을철 철새 이동시기에 마라도에서 포획한 지빠귀과 조류 116개체와 제주대학교 야생동물구조센터(Jeju Wildlife Rescue Center)에 구조되었던 지빠귀과 조류 14개체, 총 130개체를 대상으로 하였다(Table 1). 지빠귀과 조류의 포획은 한국조류보호협회 제주지회와 국립생물자원관의 도움을 얻어 마라도에서 수행하였으며, 포획된 개체는 밴딩 및 계측, 혈액 시료 채취 이후 현장에서 바로 복귀시켰다(Figure 1). 포획된 개체 및 구조된 개체의 날개 정맥에서 전혈 $5\mu\text{l}$ 이상을 채취하여 헤파린 또는 EDTA가 처리된 튜브에 검사 전까지 보관하였다.

2. 혈액도말검사



병원체를 확인하기 위해서, 현장에서 채혈직후 슬라이드에 혈액을 도말, 메탄올 고정하였다. 이후 김자용액과 증류수를 1:9의 비율로 희석하여 1시간 동안 염색하였다. 염색된 혈액도말 표본은 광학현미경(Olympus Optical Co., Tokyo, Japan)을 이용하여 적혈구 혹은 백혈구내 병원체를 관찰하였다.

3. DNA 추출

DNA 추출은 조류 전혈 $5\mu\text{l}$ 을 DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 사용하여 추출하였으며, NanoVue 분광광도계(GE Healthcare, Wisconsin, USA)를 이용하여 추출된 DNA의 최종 농도는 $100\text{ ng}/\mu\text{l}$ 전후가 되도록 조정하였다.



Figure 1. Setting of mist net(A), Wild-caught bird(B), Ring banding(C) and Blood sampling from wing vein(D)

Table 1. Species of Thrushes used in this study

Species	Northward migrant		Southward and winter migrant		Total
	Wild-caught	Rescued	Wild-caught	Rescued	
Brown-headed Thrush(<i>Turdus chrysolaus</i>)	2	0	1	1	4
Dusky Thrush(<i>Turdus eunomus</i>)	1	0	0	0	1
Eye-browed Thrush(<i>Turdus obsurus</i>)	7	0	4	0	11
Grey-backed Thrush(<i>Turdus hortulorum</i>)	7	0	2	0	9
Japanese Thrush(<i>Turdus cardis</i>)	11	1	4	0	16
Naumann's Thrush(<i>Turdus naumanni</i>)	2	0	0	0	2
Pale Thrush(<i>Turdus pallidus</i>)	30	0	30	7	67
Siberian Thrush(<i>Zoothera sibirica</i>)	4	0	0	0	4
White's Thrush(<i>Zoothera aurea</i>)	9	2	2	3	16
Total	73	3	43	11	130
		76		54	130

4. PCR

지빠귀과 조류의 혈액에서 추출한 DNA에서 *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 또는 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp. 병원체의 감염 확인을 위하여 각각 16S rRNA와 cytochrome *b* gene을 증폭하는 특이 primer sets을 이용하여 PCR을 실시하였다. PCR에 사용된 primer와 PCR 조건은 표에 제시하였다(Table 2). 2X TOP simple TM DyeMIX (aliquot)-nTaq Kit (Enzynomics, Daejeon, Korea)를 사용하여 TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice (Takara Bio, Kusatsu, Japan)로 특이 유전자를 증폭하였다. PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 100 bp DNA ladder marker (Enzynomics, Daejeon, Korea)와 함께 전기영동하여 확인하였다.

Anaplasma/Ehrlichia spp.는 1차 PCR에서 양성인 경우, PCR 반응액을 증류수로 20배 희석하여 *A. phagocytophilum* 16S rRNA에 특이적인 EE3F-EE4R primer set (EE primer)으로 2차 nested PCR을 실시하였다.

Haemoproteus/Plasmodium/Leucocytozoon spp.는 1차 PCR에서 양성인 경우, 1차 PCR 반응액을 증류수로 20배 희석하여 HAEMF-HAEMR primer set로 2차 PCR을 실시하였다.

5. 염기서열 분석

PCR 결과에서 양성으로 확인된 *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 및 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.의 PCR 산물은 염기서열 분석을 의뢰하였다(Solgent, Daejeon, Korea). MEGA 5.1 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Tamura K *et al.*) 프로그램을 이용하여 전체 염기서열을 완성하였으며, National Center for Biotechnology Information (NCBI) Gen bank 내 Blast 검색을 통하여 유사 염기서열을 가지는 원인체를 확인하였다. 또한 각 원인체 별 염기서열은 ClustalW를 이용하여 유사한 종의 염기서열과 alignment를 실시하였으며 `neighbor-joining analysis를 사용하여 phylogenetic tree를 제작하였다.

Table 2. PCR primer sets 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	Cycles	
<i>Anaplasma/Ehrlichia</i> spp. 16S rRNA	AE1-F	AAGCTTAACACATGCAAGTCGAA	1,406	94°C/30s	59°C/30s	72°C/30s	35	Oh <i>et al.</i> 2009
	AE1-R	AGTCACTGACCCAACCTTAAATG						
<i>A. phagocytophilum</i> 16S rRNA	EE3F	GTCGAACGGATTATTCTTTATAGCTTGC	926	94°C/30s	56°C/30s	72°C/45s	30	Barlough <i>et al.</i> 1996
	EE4R	CCCTTCCGTTAAGAAGGATCTAATCTCC						
Cytochrome <i>b</i> gene of the avian <i>Plasmodium</i> parasite	HAEMNF	CATATATTAAGAGAATTATGGAG	551	94°C/30s	50°C/30s	72°C/45s	35	Hellgren <i>et al.</i> 2004
	HAEMR	GCATTATCTGGATGTGATAATGGT						
	HAEMF	ATGGTGCTTTTCGATATATGCATG	525	94°C/30s	50°C/30s	72°C/45s	35	
	HAEMR	GCATTATCTGGATGTGATAATGGT						

III. 결 과

1. *Anaplasma/Ehrlichia* spp.

(1) 형태적 관찰

혈액도말 염색 슬라이드 표본에서 *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 양성으로 확인된 개체 표본을 대상으로 광학현미경 1,000배율에서 관찰하였지만, 마라도 현장에서 혈액도말 과정 및 염색처리 과정에서 적혈구가 손상되거나 염색이 잘 되지 않아서 *Anaplasma/Ehrlichia* spp.로 의심되는 충체를 확인할 수 없었다.

(2) PCR을 통한 병원체 확인

전체 130개체의 지빠귀과 조류 중에서 8개체가 *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 양성을 나타냈으며, *A. phagocytophilum* 감염 확인을 위하여 nested PCR을 실시한 결과, 7개체(5.4%)가 양성으로 확인되었다(Figure 2). *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 감염률은 6.2%로 나타났으며, 감염된 개체는 모두 봄철 북상하는 개체였다(Table 3). 8개체는 검은지빠귀(Japanese thrush, *Turdus cardis*) 2개체, 호랑지빠귀(White's thrush, *Zoothera aurea*) 1개체, 흰배지빠귀(Pale thrush, *Turdus pallidus*) 5개체였다(Table 4).

(3) *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 16s rRNA의 염기서열 분석

종이 확인되지 않은 1개체는 염기서열 분석을 통해서 *E. chaffeensis*임을 확인하였다. 총 7개체의 지빠귀에서 검출된 *A. Phagocytophilum*의 염기서열은 각각 926bp, 1개체의 지빠귀에서 검출된 *E. chaffeensis*의 염기서열은 1,328bp로 확인되었다. 이 중 2013-149 개체시료에서 확인된 *A. Phagocytophilum*의

염기서열은 도내의 작은소참진드기 (*Haemaphysalis longicornis*)에서 분리된 *A. Phagocytophilum*의 염기서열과 99.5%의 유사성을 나타냈으며, 040-14475 개체시료에서 확인된 *E. chaffeensis* 염기서열은 일본의 *Haemaphysalis* 속 진드기에서 확인된 *E. chaffeensis*의 염기서열과 98.6%의 유사성을 나타냈다 (Figure 3).

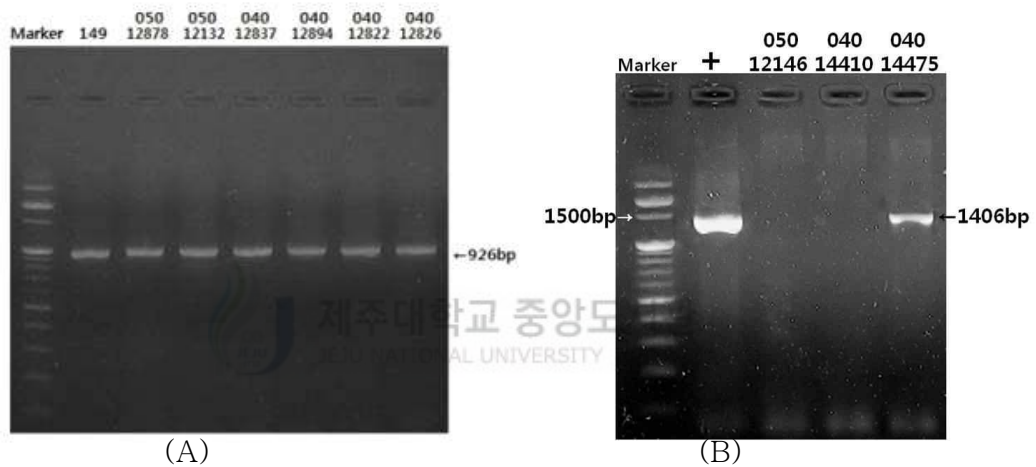


Figure 2. Electrophoresis analysis of DNAs amplified by PCR targeted 16s rRNA of *Anaplasma/Ehrlichia* spp. on 1.5% agarose gel. Result of nested PCR with primer set EE3F-EE4R(A). The seven samples are infected with *A. phagocytophilum*. Result of PCR with primer set AE1F-AE1R(B). one sample is infected with *E. chaffeensis*.

Table 3. Prevalence of *Anaplasma/Ehrlichia* spp. infection in Thrushes

Samples	PCR positive (16s rRNA)	Species	
		<i>A. phagocytophilum</i>	<i>E. chaffeensis</i>
Thrush	Northward Migrant	8/76 (10.5%)	7/76 (9.2%)
	Southward Migrant	0/54 (0%)	0/54 (0%)
Total	8/130 (6.2%)	7/130 (5.4%)	1/130 (0.8%)

Table 4. Bird Species of infected with *Anaplasma/Ehrlichia* spp.

	Japanese Thrush	White's Thrush	Pale Thrush	Total
<i>A. phagocytophilum</i>	2	1	4	7
<i>E. chaffeensis</i>	0	0	1	1
Total	2	1	5	8



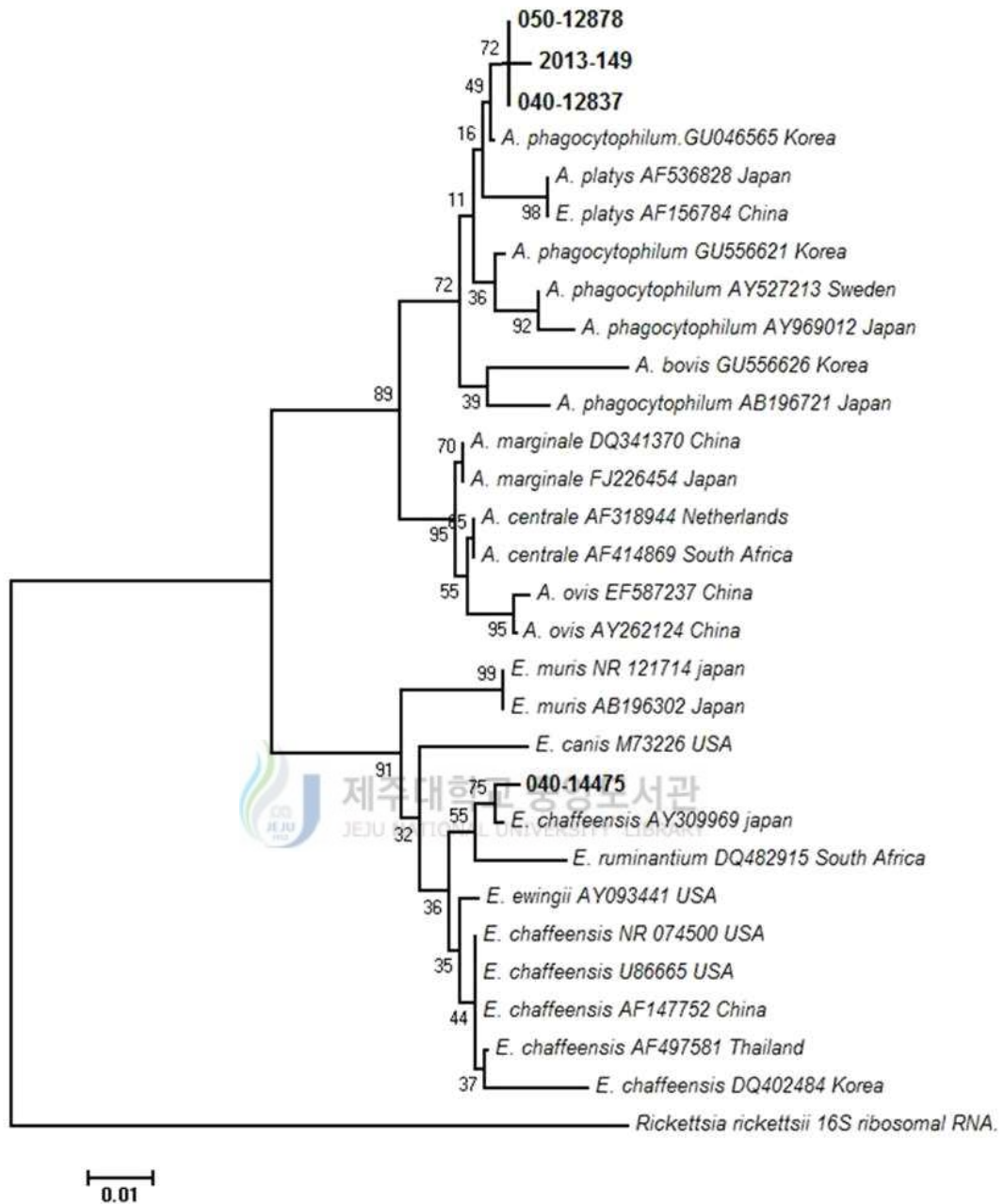


Figure 3. Phylogenetic tree of partial 16s rRNA gene sequences of various *Anaplasma*/*Ehrlichia* species and PCR-amplified 16s rRNA products from trushes. Phylograms were generated by neighbor-joining method with distance matrix calculation by Kimura's two parameters, operated by MEGA software version 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. *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.

(1) 형태적 관찰

공통 primer를 이용한 PCR 결과, 양성으로 확인된 개체 혈액도말에서 *Haemoproteus* spp.와 *Plasmodium* spp.을 관찰하였다. 모두 적혈구 내 세포질에 존재했으며, 모양이나 크기는 핵을 둘러싸고 있으면서 다양하였다(Figure 4).

(2) PCR을 통한 병원체 확인

전체 130개체의 지빠귀과 조류 중에서 41개체(31.5%)가 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp. 양성으로 나타났으며, 양성 밴드는 500bp 근처에서 확인되었다(Figure 5). 감염된 개체는 되지빠귀(Grey-backed thrush, *Turdus hortulorum*) 2개체, 호랑지빠귀(White's thrush, *Zoothera aurea*) 5개체, 흰눈썹붉은배지빠귀(Eye-browed thrush, *Turdus obscurus*) 3개체, 붉은배지빠귀(Brown-headed thrush, *Turdus chrysolais*) 2개체, 흰눈썹지빠귀(Siberian thrush, *Zoothera sibirica*) 2개체, 흰배지빠귀(Pale thrush, *Turdus pallidus*) 27개체로 나타났다(Table 9). 감염률은 봄철 북상하는 개체 31.6%, 가을·겨울철 남하하는 개체 31.5%로 감염률의 특별한 차이는 없었다(Table 8).

(3) *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp. cytochrome *b* gene 염기서열 분석

양성으로 확인된 PCR 산물은 염기서열을 통하여 8개체가 *Haemoproteus* spp., 5개체가 *Leucocytozoon* spp., 28개체가 *Plasmodium* spp.으로 확인되었다. 총 41개체에서 검출된 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.의 염기서열은 39개체에서 551bp, 2개체에서 525bp의 cytochrome *b* gene 염기서열로 확인되었다. 이 중 *Haemoproteus* spp.는 8개체에서 확인하였으며, 염기서열은 3가지 형태로 나타났다(Table 5). *Leucocytozoon* spp.는 5개체에서 확

인하였으며, 염기서열은 2가지 형태로 나타났다(Table 6). *Plasmodium* spp.는 28개체에서 확인하였으며, 염기서열은 3가지 형태로 나타났다(Table 7). *Haemoproteus* spp. 감염 040-12195, 2014-188 개체 시료의 염기서열 분석에서, 각각 유럽에서 대륙검은지빠귀(Blackbird, *Turdus merula*)와 알락딱새(Pied flycatcher, *Ficedula hypoleuca*)의 혈액에서 분리된 *Haemoproteus* 종과 99.3%의 유사성을 나타내었다. *Leucocytozoon* spp. 감염 040-15491, 050-12146 개체 시료의 염기서열 분석에서 다른 조류의 혈액에서 분리한 *Leucocytozoon* 종의 염기서열과 각각 97.8%, 97%의 유사성을 나타내었다. *Plasmodium* spp. 감염 040-14423, 040-14447 개체 시료의 염기서열 분석에서 American robin(*Turdus migratorius*)과 같은 조류의 혈액에서 분리된 *Plasmodium* 종의 염기서열과 각각 97%, 99.3%의 유사성을 나타냈다(Figure 6).



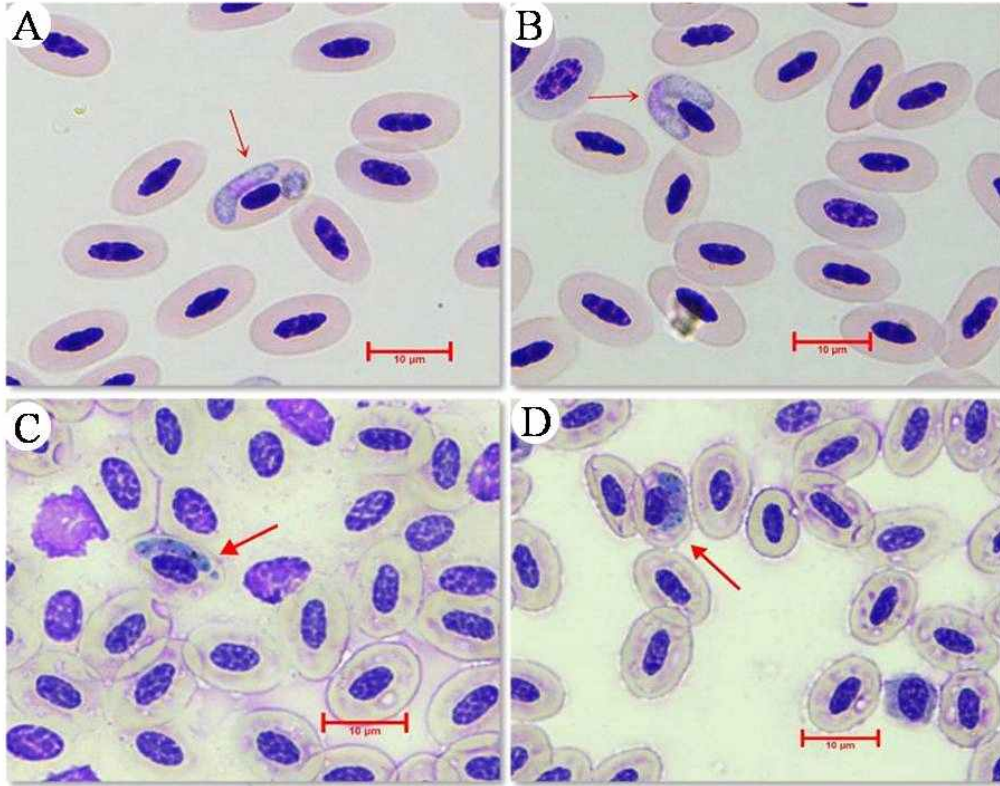


Figure 4. Results of Microscopic observation. *Haemoproteus* sp. from the blood of the white' s thrush(2014-188) (A,B), *Plasmodium* sp. from the blood of the pale thrush(040-15466) (C,D). scale bar:10µm

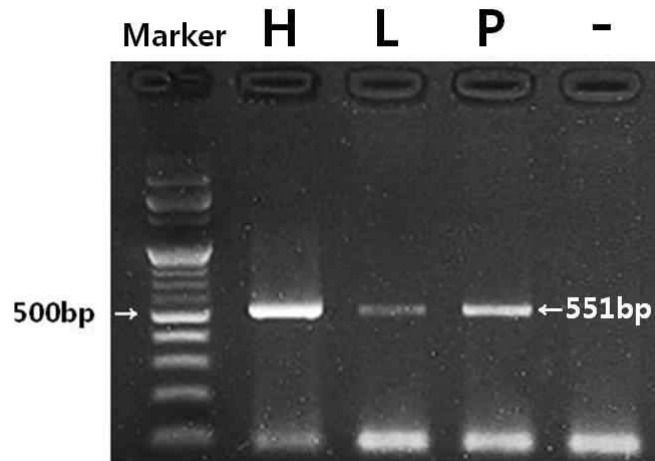


Figure 5. Electrophoresis analysis of DNAs amplified by PCR targeted cytochrome b genes of *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp. on 1.5% agarose gel. The infected sample fragment is 551bp.

Table 5. Sequence alignments of *Haemoproteus* cytochrome *b* genes

ID No.	1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 4 4 4 4 5 5 5 5 5 5 5																																											
	1	2	3	4	5	0	1	2	3	1	0	1	1	2	3	2	5	5	0	4	0	1	2	3	4	5	1	8	7	1	5	5	6	3	9	7	8	9	0	1				
040-12195	C	A	T	A	T	G	T	A	A	A	A	T	A	T	A	T	G	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	T	A	T	C	T	G	T	C	A	A	T	G	C				
040-12259	
040-15499	
040-15427	
040-14482	
040-14475
040-14470
2014-188	A	C	.	.	C



Table 6. Sequence alignments of *Leucocytozoon* cytochrome *b* genes

ID No.	1 2 2 2 2 2 2 2 2 2																																																	
	1	2	3	4	5	8	1	3	3	4	9	0	1	2	3	3	4	5	6	7	8	2	3	4	9	0	8	9	4	5	6	7	8	9	0	1	1	3	3	3	3	3	3	3						
040-15438	C	A	T	A	T	T	A	A	A	T	A	C	A	T	A	C	T	T	T	C	T	A	T	T	A	T	T	T	T	C	G	T	T	C	C	G	G	T	A	A										
040-15421		
040-15491	
040-15484
050-12146	T	A	.	.	C	.	T	.	.	T	.	A	.	.	T	A	.	C	.	a	.	.	C	.	A	.	A	.	T	.	A	.	.	T			

ID No.	2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 3 3 3 3 3 3 3 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5																																																				
	4	4	6	6	6	6	7	7	8	8	8	0	4	6	6	6	6	9	1	4	8	9	9	9	9	9	9	0	0	0	2	2	2	2	2	2	4	4	4	5	5	5	5										
4	5	1	5	6	7	8	9	0	5	6	3	7	0	1	2	3	0	7	5	3	0	4	5	6	7	8	1	2	7	1	2	3	4	5	7	8	9	0	1														
040-15438	C	T	C	C	T	C	T	T	T	A	G	C	T	A	A	T	C	T	G	T	T	A	T	G	T	T	G	C	T	C	G	T	A	T	T	A	A	T	G	C													
040-15421		
040-15491	
040-15484
050-12146	T	.	T	T	.	A	.	A	.	T	.	T	.	T	.	.	A	C	T	.	A	.	.	A	.	C	T	.	A	.	.	A		

Table 7. Sequence alignments of *Plasmodium* cytochrome *b* genes

ID No.																											1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2
	1	2	3	4	5	3	3	3	5	6	6	6	7	7	7	7	7	8	8	8	1	1	2	2	4	5	5	5	5	6	6	8	8	3	3	4	6	6	7															
040-14423	C	A	T	A	T	T	C	A	A	A	T	A	T	T	C	T	T	A	C	T	T	C	T	C	A	A	A	A	T	A	C	A	G	A	T	T	T	G	T	T														
040-12143												
040-12167												
040-12263												
050-12145												
040-12181												
2013-516												
2013-540												
050-07148												
050-12183											
040-14479											
040-14487											
040-14429										
040-14445									
040-15406									
040-14448									
040-14496									
040-15410									
040-15466									
040-14488								
040-14418								
040-14433								
040-14461							
040-15469							
040-15495						
040-12822	-	-	-	-	-	C	T	C							
040-12837	-	-	-	-	-	C	T	C						
040-14447	T	T	.	.	T	.	T	.	C	T	.	A	.	.	C	.	.	A	.	T	T	.	T	.	G	.	T	.	T	.	A	C	.	A	C									

ID No.	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5			
	9	0	0	0	0	2	2	3	3	3	4	4	5	6	6	7	8	8	9	9	0	5	5	8	8	8	9	9	0	0	0	0	1	1	1	4	4	4	5	5	
	7	2	3	8	9	6	7	2	3	8	1	2	1	8	9	8	4	5	0	1	6	6	7	7	8	9	0	1	4	5	6	7	2	3	4	7	8	9	0	1	
040-14423	T	A	T	C	A	T	T	A	C	T	T	T	A	T	C	A	T	C	T	C	A	T	T	A	T	T	C	T	A	G	C	A	G	T	C	A	A	T	G	C	
040-12143
040-12167
040-12263
050-12145
040-12181
2013-516
2013-540
050-07148
050-12183
040-14479
040-14487
040-14429
040-14445
040-15406
040-14448
040-14496
040-15410
040-15466
040-14488
040-14418
040-14433
040-14461
040-15469
040-15495
040-12822
040-12837
040-14447	A	.	C	.	C	.	A	.	T	C	.	C	T	.	T	C	C	T	.	T	.	A	.	.	A	T	.	T	.	T	.	T		



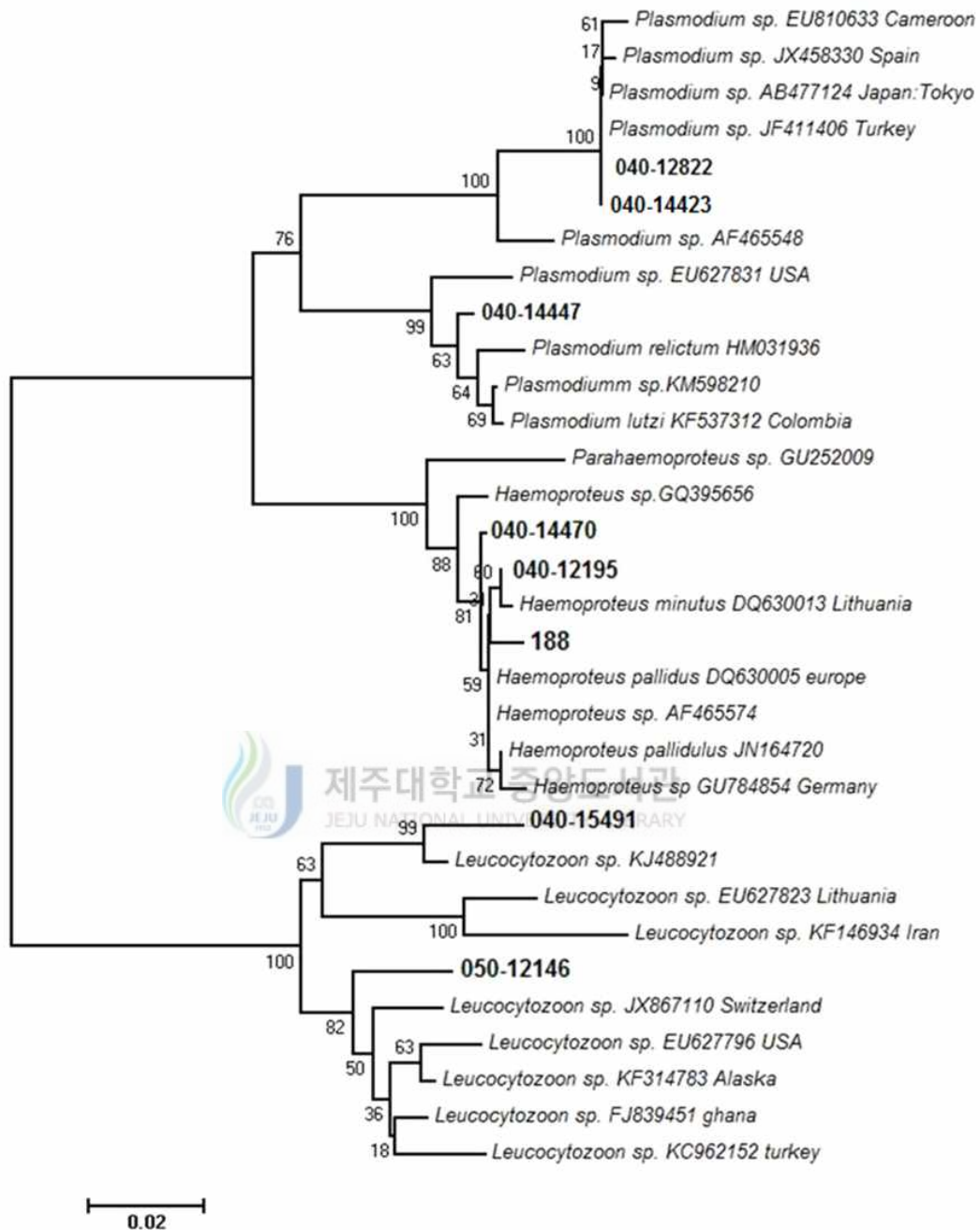


Figure 6. Phylogenetic tree of partial gene sequences of various *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* species and PCR-amplified cytochrome *b* gene sequences of various *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* species from Thrushes. Phylograms were generated by neighbor-joining method with distance 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 8. Prevalence of *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp. infection in Thrushes

Samples	PCR positive (cytochrome <i>b</i> gene)	Species		
		<i>Haemoproteus</i> spp.	<i>Leucocytozoon</i> spp.	<i>Plasmodium</i> spp.
Northward Migrant Thrush	24/76 (31.6%)	6/76 (7.9%)	5/76 (6.6%)	13/76 (17.1%)
Southward Migrant	17/54 (31.5%)	2/54 (3.7%)	0/54 (0%)	15/54 (27.8%)
Total	41/130 (31.5%)	8/130 (6.2%)	5/130 (3.8%)	28/130 (21.5%)

Table 9. Bird Species of infected with *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.

Thrush Species	<i>Haemoproteus</i> spp.	<i>Leucocytozoon</i> spp.	<i>Plasmodium</i> spp.	Total
Grey-backed Thrush	0	0	2	2
White's Thrush	1	1	3	5
Eye-browed Thrush	2	1	0	3
Brown-headed Thrush	0	1	1	2
Siberian Thrush	1	0	1	2
Pale Thrush	4	2	21	27
Total	8	5	28	41

IV. 고 찰

본 연구에서는 *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 중에서 *A. phagocytophilum* 및 *E. chaffeensis*가 제주도내 지빠귀과 새들에서 확인되었으며, *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 감염률은 6.2%로 나타났다. 국외의 한 연구에서는 지빠귀과 조류인 Redwing (*Turdus iliacus*) 및 Blackbird (*Turdus merula*)에서 기생하는 진드기의 *A. phagocytophilum* 감염률이 각각 6.3%, 4.2%로 나타났다[12]. 이러한 결과와 비교하면 지빠귀과 새들의 혈액 내 *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 직접 감염률은 진드기 내 감염률과 비슷하게 나타난다. 이는 지빠귀과 새들이 주로 땅에서 활동하기 때문에 다른 조류에 비해 진드기가 새들의 몸체에 달라붙을 확률이 높으며, 그에 따라서 진드기가 매개하는 병원체인 *A. phagocytophilum* 및 *E. chaffeensis*에 감염되었을 것으로 생각한다. 이번에 *A. phagocytophilum*이 확인된 개체의 대부분(86%, 6/7)은 마라도에서 포획된 개체였으며, 이들은 모두 봄철에 통과하는 개체들이었다. *E. chaffeensis*에 감염된 1개체 역시 마라도에서 포획된 개체이면서 봄철 통과 개체였다. 봄철 통과개체들은 제주도를 거쳐 한반도, 중국, 러시아 등 북부번식지로 이동하며 이러한 점은 북상하는 개체를 통해 *Anaplasma/Ehrlichia* spp.가 제주도 남쪽지역에서 유입될 수 있음을 시사한다. 그리고 제주도에서 감염이 될 경우에는 한반도 및 북부번식지로의 전파할 수 있는 가능성을 가지고 있다. 이번 연구에서 확인된 *E. chaffeensis*의 염기서열은 일본에서 *Haemaphysalis* 속 진드기에서 확인된 *E. chaffeensis*와 98.6%의 높은 유사성을 보였으며, 이를 통해 질병의 유입이 제주도보다 남쪽인 일본에서 유입될 가능성을 가지고 있다고 생각된다. 반면, 이번 연구에서 밝혀진 *A. phagocytophilum*의 염기서열은 도내의 작은소참진드기 (*Haemaphysalis longicornis*)에서 확인된 *A. phagocytophilum*의 염기서열과 99.5%의 유사성을 나타냈으며, 이들은 마라도 또는 제주도 내에서 감염된 것으로 판단된다. 따라서 이들의 경우에는 제주도에서 감염된 병원체를 한반도 및 중국, 러시아 등으로 전파할 수 있는 가능성 또한 가지고 있다고 사료된다.

그리고 다른 흡혈성절지동물 매개 질병인 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.이 본 연구에서 확인되었다. 이들 질병은 해외 다양한 조류에서 발견되었으며 지빠귀과 조류에서도 많은 연구결과에서 보고되고 있다. 러시아에서는 *H. minutus*가 붉은배지빠귀(Brown-headed thrush, *Turdus chrysolaus*) 및 붉은날개지빠귀(Redwing, *Turdus iliacus*)에서 검출되었고[21], 일본에서는 *Leucocytozoon* spp.가 노랑지빠귀(Naumann's thrush, *Turdus naumanni*)에서 검출되었다[19]. 또한 우리나라에서 샘플링한 검은지빠귀(Japanese thrush, *Turdus cardis*) 조직에서 *Haemoproteus* spp.이 확인된 바 있다[15]. 야생조류를 포획하거나 구조센터에서 구조된 개체를 보면, 많은 조류에서 그들의 깃털에 붙은 이파리나 이 등을 볼 수 있다. 지빠귀과 조류에서도 역시 이파리나 이 등이 많이 관찰되는데, 이들이 매개체가 되어 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.을 감염시키는 것으로 사료된다. 본 연구에서 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.의 감염률은 31.5%로 나타났다. 미국의 한 연구에서는 46종의 조류를 대상으로 한 결과, *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.의 감염률이 39%로 나타났으며[18], 가면올빼미과 조류에서 24%[14], 유럽에서는 참새목 조류에서 감염률이 26%로 나타났다[24]. 브라질에서도 참새목 조류에서 *Plasmodium* spp.의 감염률이 39.6%로 나타났다[23]. 또한 아시아의 세 지역에서 채취한 조류의 조직을 대상으로 이들 병원체의 감염률을 조사한 결과, 각각 미얀마에서 37.3%, 인도에서 46%, 우리나라에서 42%로 나타났다[15]. 조사한 보고서들에서, 24%부터 46%까지 감염률이 다양하게 나타나는 바, 본 연구에서 감염률 31.5%는 다른 연구자와 유사한 결과라 생각되며, 지빠귀과 조류에서 특별히 높은 감염률을 나타내지는 않았다. 또한 봄철 북상하는 개체 31.6%, 가을철 남하하는 개체 31.5%로 북상과 남하 개체간의 감염률에는 유의적 차이를 보이지 않았다. 본 연구에서 확인된 *Haemoproteus* spp.의 염기서열 중 하나(2014-188)는 유럽의 알락딱새(Pied flycatcher, *Ficedula hypoleuca*)에서 확인된 *Haemoproteus pallidus*의 염기서열과 99.3%의 유사성을 나타냈으며, *Leucocytozoon* spp.의 염기서열 중 하나(050-12146)는 미국의 아메리카수리부엉이(Great horned owl, *Bubo virginianus*)에서 확인된 *Leucocytozoon* sp.의 염기서열과 97.0%의 유사성을

나타냈다. 또한 *Plasmodium* spp.의 염기서열 중 하나(040-12822)는 카메룬의 African Thrush(*Turdus pelios*)에서 확인된 *Plasmodium* sp.의 염기서열과 99.6%의 유사성을 나타냈다. 이를 통해서 이러한 병원체는 유럽, 미국, 아프리카 등 다양한 지역에서 감염되어 전파되고 있는 것으로 볼 수 있다.

그리고 본 연구에서 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.의 감염률이 *Anaplasma/Ehrlichia* spp.의 감염률에 비해 비교적 높게 나타났으며, *Anaplasma/Ehrlichia* spp.의 경우 질병의 감염률이 계절에 따라 차이가 나지만 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.의 경우에는 차이가 나지 않았다. 이는 각 병원체의 매개체인 진드기와 이파리의 특성에 의해 좌우되는 것으로 생각된다. 즉, 도내의 이파리류에 경우, *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.가 기존에 존재하였거나 새로이 철새를 통해 유입되어 정착된 것으로 보인다. 충분한 시료와 조사기간이 필요하겠지만, 도내의 진드기의 경우 *Anaplasma/Ehrlichia* spp.이 검출되기는 하나 유병률은 낮은 편이기 때문에 아직 감염률이 비교적 낮게 나타나는 것으로 보인다. 따라서 기후변화에 따른 질병의 장기적 모니터링에서 이파리에 의해 매개되는 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.의 위협 수준은 크게 변하지 않겠지만, 진드기에 의한 *Anaplasma/Ehrlichia* spp.의 위협 수준은 더 확대될 가능성이 있다고 판단된다.

본 연구에서는 지빠귀과 조류만을 대상으로 조사하였지만, 다양한 흡혈절지동물의 숙주가 되는 또 다른 많은 종의 철새들 모두는 이러한 흡혈성절지동물 매개 질병의 보균숙주가 될 수 있다. 따라서 추후에도 이동철새를 대상으로 한 흡혈성절지동물 매개 질병의 감염실태 조사 및 지속적인 관찰이 필요하다고 생각되며, 조류의 직접 감염 및 그들의 기생하는 흡혈절지동물에 대한 조사를 병행할 필요성이 있다고 사료된다.

V. 결 론

제주도내 지빠귀과 조류 총 130개체의 혈액을 수집하여 혈액 내 흡혈절지동물 매개 질병인 Anaplasmosis/Ehrlichiosis 및 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.의 감염여부를 확인하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 전체 130개체의 지빠귀과 조류 중에서 7개체가 *A. phagocytophilum*, 1개체가 *E. chaffeensis*에 감염되어, *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 감염률은 6.2%로 나타났으며, 감염된 모든 개체는 봄철 북상하는 개체였다.
2. *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.에 감염된 지빠귀과 조류는 130개체 중 41개체로 확인되었다. 이 중 8개체는 *Haemoproteus* spp., 5개체는 *Leucocytozoon* spp., 28개체는 *Plasmodium* spp.에 감염되어, *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp. 감염률은 31.5%로 나타났으며 *Anaplasma/Ehrlichia* spp.의 감염률보다 비교적 높게 나타났다. 봄철 북상하는 개체에서 31.6%, 가을·겨울철 남하하는 개체에서 31.5%로 감염률의 특별한 차이는 나타나지 않았다.

이상의 결과로 지빠귀과 조류는 진드기 및 이파리 등에 의해 *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 및 *Haemoproteus/Leucocytozoon/Plasmodium* spp.과 같은 다양한 흡혈절지동물 매개 질병에 감염되는 것이 확인되었으며, 이들이 다른 철새들이나 가축에게 이러한 질병을 매개하거나 전파할 수 있는 보균자가 될 수 있기에 지속적인 감시와 관리가 필요할 것으로 사료된다.

VI. 참고문헌

1. 이우신, 구태희, 박진영, 타니구찌 타카시. 한국의 새. LG 상록재단. 2005: 12-14, 226-231
2. 한국수의기생충학교수협의회. 수의기생충학. 농경애니텍. 2005: 330-339, 349-355
3. 한국조류학회. 한국조류목록. 한림원. 2009: 60-62
4. Abulreesh HH, Goulder R, Scott GW. Wild birds and human pathogens in the context of ringing and migration. Ringing Migr 2007; 23: 193-200.
5. Anderson BE, Dawson JE, Jones DC, Wilson KH. *Ehrlichia chaffeensis*, a new species associated with human ehrlichiosis. J Clin Microbiol 1991; 29: 2838-2842.
6. Atkinson CT, Thomas NJ, Hunter DB. Parasitic diseases of wild birds. Wiley-Blackwell. 2008: 13-107
7. Barlough JE, Madigan JE, DeRock E, Bigornia L. Nested polymerase chain reaction for detection of *Ehrlichia equi* genomic DNA in horses and ticks (*Ixodes pacificus*). Vet Parasitol 1996; 63: 319-329.
8. 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.

9. Friend M, Franson JC. Field Manual of Wildlife Disease: General Field Procedures and Disease of Birds. Washington, D.C.: US Geological Survey. 1999: 193–199
10. Hasle G. Transport of ixodid ticks and tick-borne pathogens by migratory birds. Front Cell Infect Microbiol 2013; 3: 48.
11. Hellgren O, Waldenstrom J, Bensch S. A new PCR assay for simultaneous studies of *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, and *Haemoproteus* from avian blood. J Parasitol 2004; 90: 797–802.
12. Hildebrandt A, Franke J, Meier F, Sachse S, Dorn W, Straube E. The potential role of migratory birds in transmission cycles of *Babesia* spp., *Anaplasma phagocytophilum*, and *Rickettsia* spp. Ticks Tick Borne Dis 2010; 1: 105–107.
13. Hornok S, Kovats D, Csorg T, Meli ML, Gonczi E, Hadnagy Z, Takacs N, Farkas R, Hofmann-Lehmann R. Birds as potential reservoirs of tick-borne pathogens: first evidence of bacteraemia with *Rickettsia helvetica*. Parasit Vectors 2014; 7: 128.
14. Ishak HD, Dumbacher JP, Anderson NL, Keane JJ, Valkiūnas G, Haig SM, Tell LA, Sehgal RN. Blood parasites in owls with conservation

- implications for the spotted owl (*Strix occidentalis*). PloS one 2008; 3: e2304.
15. Ishtiaq F, Gering E, Rappole JH, Rahmani AR, Jhala YV, Dove CJ, Milensky C, Olson SL, Peirce MA, Fleischer RC. Prevalence and diversity of avian hematozoan parasites in Asia: a regional survey. J Wildl Dis 2007; 43: 382–398.
 16. Kang JG, Kim HC, Choi CY, Nam HY, Chae HY, Chong ST, Klein TA, Ko S, Chae JS. Molecular detection of *Anaplasma*, *Bartonella*, and *Borrelia* species in ticks collected from migratory birds from Hong-do Island, Republic of Korea. Vector Borne Zoonotic Dis 2013; 13: 215–225.
 17. Kinsey AA, Durden LA, Oliver JH, Jr. Tick infestations of birds in coastal Georgia and Alabama. J Parasitol 2000; 86: 251–254.
 18. Martinsen ES, Blumberg BJ, Eisen RJ, Schall JJ. Avian hemosporidian parasites from northern California oak woodland and chaparral habitats. J Wildl Dis 2008; 44: 260–268.
 19. Murata K. Prevalence of blood parasites in Japanese wild birds. J Vet Med Sci 2002; 64: 785–790.
 20. 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: 257–267;

21. Palinauskas V, Iezhova TA, Križanauskienė A, Markovets MY, Bensch S, Valkiūnas G. Molecular characterization and distribution of *Haemoproteus minutus* (Haemosporida, Haemoproteidae): A pathogenic avian parasite. *Parasitol Int* 2013; 62: 358–363.
22. Pietzsch ME, Mitchell R, Jameson LJ, Morgan C, Medlock JM, Collins D, Chamberlain JC, Gould EA, Hewson R, Taylor MA, Leach S. Preliminary evaluation of exotic tick species and exotic pathogens imported on migratory birds into the British Isles. *Vet Parasitol* 2008; 155: 328–332.
23. Ribeiro S, Sebaio F, Branquinho F, Marini M, Vago A, Braga E. Avian malaria in Brazilian passerine birds: parasitism detected by nested PCR using DNA from stained blood smears. *Parasitology* 2005; 130: 261–267.
24. Scheuerlein A, Ricklefs RE. Prevalence of blood parasites in European passeriform birds. *Proc Biol Sci* 2004; 271: 1363–1370.
25. Wen B, Rikihisa Y, Mott J, Fuerst PA, Kawahara M, Suto C. *Ehrlichia muris* sp. nov., identified on the basis of 16S rRNA base sequences and serological, morphological, and biological characteristics. *Int J Syst Bacteriol* 1995; 45: 250–254.

