

## 肝蛭의 被囊幼蟲을 投與받은 數種 實驗動物에 있어서의 感染狀態

大韓體育科學大學 環境保健學科

田 桂 植\*

梨花女子大學校 醫科大學 寄生蟲學教室

閔 弘 基

= Abstract =

### Study on Some Aspects of Infection in Laboratory Animals Experimentally Infected with *Fasciola hepatica* Metacercariae

Kae-Shik Chun\*

Department of Environmental Health, Korea Sports Science College

Hong-Ki Min

Department of Parasitology, College of Medicine, Ewha Womans University

The present study was performed to reveal out infection rate, worm recovery rate and individual worm burden in mice, rats, rabbits and goats experimentally infected with metacercariae of *Fasciola hepatica* for establishment of animal model as experimental host of the fluke. Metacercariae were obtained from experimentally infected snails, *Lymnaea pervia*.

The results obtained are summarised as follows :

- 1) Infection rate was 100% in mice, rabbits and goats, respectively, and 73.3% in rats.
- 2) Days(mean) that eggs were found in the faeces for the first time after infection were 37~46 days(41days) in mice, 39~49 days(44days) in rats, 49~63 days(56 days) in rabbits and 68~88 days(78 days) in goats, respectively. The flukes mature more quickly in smaller hosts.
- 3) Worm recovery rate and mean of individual worm burden were 27.7% and 1.7 in mice, 10.7% and 1.1 in rats, 36.0% and 10.8 in rabbits and 42.7% and 21.3 in goats, respectively. Goats are regarded as favorable experimental hosts of the fluke.

### 緒 論

肝蛭(*Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758)은 汎世

界的으로 분포하며 주로 牛族과 羊族을 비롯한 수많은 동물의 膽管内에 기생하는 吸蟲<sup>1)</sup>이지만 人體感染도 1,300례를 상회하고 있는<sup>2)</sup> 주요 人獸共

\*梨花女子大學校 醫科大學 寄生蟲學教室 外來教授, 獸醫學博士

\*Attending Professor : Department of Parasitology, College of Medicine, Ewha Womans University

通寄生蟲으로서 本蟲 感染은 畜産에 막대한 손실을 끼칠 뿐만 아니라<sup>3,6)</sup> 인체에 있어 심각한 病害를 유발하는 바<sup>7)8)</sup> 축산선진국에 있어서는 人獸에의 감염을 예방하기 위한 實驗的 研究活動이 활발하게 전개되어 왔다<sup>1)9)10)</sup>.

우리나라에 있어서도 근년까지 牛族과 羊族등에 높은 率로 감염, 전국적으로 분포하여 왔고<sup>11-16)</sup> 인체감염도 10례 이상이 보고되었으며<sup>17)18)</sup> 최근에 이르면서 그 感染例 報告數가 急増하고 있는 경향이 뚜렷하여 이의 관리책 수립이 促急되고 있으나 이를 위한 實驗的 研究活動은 거의 없는 상태이다.

某種의 특정 기생충에 관한 실험적 연구를 위해서는 人工感染動物과 自然感染動物을 함께 사용하는 것이 原則이기 때문에 實驗動物에 감염시킬 수 있는 病原體의 준비가 必須의이며 또한 制限된 空間內에서의 취급이 보다 쉬우며 경제적이고 示顯되는 성적이 有意성이 크고 再顯性이 뛰어나 統計的 妥當性을 충족시켜 줄 수 있는 適正한 動物種이 있어야 한다.

이에 우선 마우스, 白鼠, 家兔 및 黑山羊등을 선정, 人工的으로 배양한 간질의 被囊幼蟲을 감염시킨 다음 動物種마다에서 나타나는 感染率, 卵子排出開始日, 蟲體回收率등에 관한 기초자료를 얻어 간질의 實驗動物로서의 適否를 評價하고자 본 실험을 수행하였다.

## 材料 및 方法

### 1. 肝蛭의 채집과 미라시디움의 배양

서울특별시 구로구 독산동 소재의 屠畜場에서 도살된 牛族의 膽管으로부터 충체를 수거, 실험실로 운반하여 計測<sup>19)</sup>, 肝蛭만을 골랐다. 解剖顯微鏡下에서 충체의 子宮末端部로부터 卵子를 꺼내어 약 10ml의 上水가 들어있는 紗례에 넣고 27°C 孵卵器內에서 마르지 않도록 적절하게 加水하면서 2週間 배양한 후 太陽光線에 약 20분간 노출, 자극시켜 다수의 미라시디움(miracidium)을 孵化시켜 감염에 사용하였다.

### 2. 貝類의 채집 및 사육과 미라시디움의 감염

1) 貝類의 채집 : 1989年 7月初 漢江流域에 위

치한 京畿道 廣州郡 江下面 旺倉里의 논에서 애기물달팽이(*Lymnaea pervia*)를 채집하였다.

2) 貝類의 사육 : 산소공급기, 여과기 및 형광등이 설치되었으며 水深이 약 2cm이고 棲息處로부터 가져온 논흙을 그 一部가 水面 밖으로 노출되도록 경사지게 깔고 水草를 심은 硝子水槽에 雌雄의 比가 2 : 1이 되도록 30個體씩 넣어 사육하였다. 水槽內面에 부착한 卵塊가 발견되면 이를 다른 水槽에 옮겨 넣어 부화를 기다렸다.

3) 미라시디움의 감염 : 부화후의 5~7日 齡인 稚貝 100마리에게 미라시디움을 감염시켰다. 1個體씩 직경이 약 6cm인 紗례의 중앙부에 놓고 배양액과 함께 미라시디움 10마리씩을 pipette로 吸引, 貝주위에 滴下하고 마르지 않도록 배양액을 첨가하면서 室溫에 24時間 방치, 감염을 도모하였다.

4) 食餌 : 成貝를 위해서는 배추와 상추가 투여되었으며 稚貝를 위해서는 초기에는 주로 서식처로부터 가져와 말려 만든 綠藻粉末과 Malek의 處方<sup>20)</sup>에 따라 만든 人工飼料가 투여되었고 經時的으로 發育程度에 따라 배추나 상추등이 공급되었다.

### 3. 피낭유충

감염시킨 稚貝들을 새로운 小形의 초자수조에 옮겨 넣고 사육하면서 遊出되는 有尾幼蟲이 수조 내면이나 배추 또는 상추등에 부착, 피낭유충이 형성되면 이들을 회수하여 上水를 담은 紗례에 넣어 4°C 냉장고에 보관, 실험동물의 감염에 사용하였다.

### 4. 실험동물과 피낭유충의 감염

평균 체중이 약 20gm인 雄性의 BALB/c 마우스 50마리, 약 150gm인 雄性의 Sprague-Dawley 白鼠 30마리, 약 2kg인 雄性의 앙골라 家兔 10마리, 그리고 肝蛭감염이 안된 것으로 確認된 약 15kg인 韓國産 在來 黑山羊 6마리를 사용하였다.

피낭유충을 마우스에게는 6개씩을, 그리고 白鼠에게는 10개씩을 각각 鐵製導管이 연결된 주사기를 이용, 經口的으로 직접 胃內에 주입, 감염시켰으며, 家兔에게는 30개씩을, 그리고 黑山羊에게

는 50개씩을 小片의 배추 줄기속에 끼어 넣어 투여, 감염시켰다.

蟲體의 성숙을 확인하기 위하여 감염 28일 후부터 매일 1회씩 formalin-ether 원심침전법으로 분변내의 卵子 有無를 조사하였다. 동물중에 따라 最終卵子排出開始日 약 2週日 후에 ether전신마취 하에 동물들을 희생시켜 開腹하고 肝膽管系組織을 摘出하여 膽管 및 膽囊으로부터 蟲體를 回收하였다. 卵子의 排出이 없는 동물들도 日程에 따라 剖檢, 蟲體의 有無를 確認하였다.

## 成 績

### 1. 感染率

마우스, 家兔 및 黑山羊에 있어서는 全例의 分변에서 난자가 檢출되어 한가지로 100%의 感染률을 나타내었다. 한편 白鼠에 있어서는 73.3%로 低調하였으며(Table 1), 난자의 배출이 없었던 8마리의 白鼠는 剖檢으로 感染되지 않았음이 確認되었다.

### 2. 卵子排出開始日 및 期間

감염후 마우스에 있어서는 37~46일 사이의 10일 동안에 全例에서 난자가 檢출되기 시작하였으며 41일에 絶頂에 達했던 바 이 날까지 84.1%에서 배출이 시작된 것으로 確認되었고, 白鼠에 있어서는 39~49일 사이의 11일 동안에, 家兔에 있어서는 49~63일 사이의 15일 동안에, 그리고 黑山羊에 있어서는 훨씬 늦은 68~88일 사이의 21일 동안에 난자의 배출이 시작되었다(Table 2). 平均開始日은 동물종별로 각각 41日, 44日, 56日 및 78日이었다.

Table 1. Infection rate by examination of the faeces of animals experimentally infected with metacercariae of *Fasciola hepatica*

Animal	No. of animal examined	No. of egg positive	Infection rate(%)
Mice	50	50	100.0
Rat	30	22	73.3
Rabbit	10	10	100.0
Goat	6	6	100.0

Table 2. The first days that eggs were found in the faeces of animals after infection with metacercariae of *F. hepatica*

Animal (No.)	Dav after infection	No. of egg positive	Infection rate(%)
Mice(50)	37	5	10.0
	39	8	16.0
	40	11	22.0
	41	17	34.0
	43	6	12.0
	46	3	6.0
		50	100.0
Rat(30)	39	1	3.3
	43	2	6.7
	45	7	23.3
	46	9	30.0
	47	2	6.7
	49	1	3.3
		22	73.3
Rabbit(10)	49	1	10.0
	54	3	30.0
	56	3	30.0
	59	2	20.0
	63	1	10.0
		10	100.0
Goat(6)	68	1	16.7
	75	2	33.3
	80	2	33.3
	88	1	16.7
		6	100.0

### 3. 蟲體回收率과 個體當 蟲體負荷數

6개씩의 피낭유충이 투여된 50마리의 마우스에 있어서는 總檢出蟲體數는 83마리로서 27.7%의 回收률을 보였으며 個體別로는 1~3마리 範圍로 回收되었고 平均은 1.7마리로 나타났다. 10개씩이 투여된 30마리의 白鼠에 있어서는 총 32마리가 檢出되어 10.7%의 回收률을 보였으며 個體別로는 0~2마리씩이 檢출되었고 平均은 1.1마리로 나타났다. 30개씩이 투여된 家兔에 있어서는 총 108마리가 檢출되어 36.0%의 回收률을 보였으며 個體別로는 4~21마리가 檢출되었고 平均은 10.8마리로 나타났다. 그리고 50개씩 투여된 黑山羊에 있어서는 총 128마리가 檢출되어 42.7%의 回收률을 보였으며 개체별로는 16~41마리의 범위로 檢출

Table 3. Worm recovery rate at the autopsy of animals experimentally infected with metacercariae of *F. hepatica*

Animal	No. of animal examined	No. of metacercariae administered	Day of autopsy after infection	Total No. of worm recovered	Recovery rate (%)	Individual worm burden	
						Range	Mean
Mice	50	6	63	83	27.7	1~3	1.7
Rat	30	10	63	32	10.7	0~2	1.1
Rabbit	10	30	70	108	36.0	4~21	10.8
Goat	6	50	102	128	42.7	16~41	21.3

되었고 평균은 21.3마리로 나타났다(Table 3).

### 考 察

마우스, 家兔 및 黑山羊에 있어서는 100%의 높은 感染率을, 그리고 白鼠에 있어서는 73.3%의 比較的 저조한 感染率을 보였다.

비록 國內外的으로 이러한 동물종들을 사용, 실험적으로 肝蛭 感染率을 조사한 보고에 接할 수 없어 비교 고찰을 할 수는 없었지만 蟲體回收率 및 個體當 蟲體負荷數등과 함께 고려할 때 肝蛭의 感染은 黑山羊에 있어 가장 잘 이루어지며 白鼠에 있어서는 그렇지 못한 것으로 推定되었다. 그리고 동물종별로 나타난 感染率의 差異는 全실험 과정을 통하여 발생될 수 있는 實驗手技의 잘못 때문에 유발될 수도 있다 하겠으나 그 보다는 동물종에 따른 感受性의 差異에 기인된 것으로 믿어지는 바 이는 실험적으로 感染성이 낮은 기니픽(guinea pig)에게 肝蛭의 皮낭유충을 투여 感染시키면 胃腸内에서 부화한 유충은 肝臟内로 들어가 移行하며 그 大多數는 損傷된 간장으로부터 腹腔内로 脱出해 버리고 少數만이 담관내로 들어가 성숙에 이르는 것<sup>10)</sup>과 類似한 現象이라 理解되었으며 또한 正確을 기하기 위하여 담관내에서 완전히 성숙한 뒤의 虫체들을 計數할 수 있도록 계획, 銳意 遂行하였기 때문이라 하겠다.

感染후의 卵子排出開始日과 期間은 마우스에 있어서는 37~46日 사이의 10日 동안이었으며 白鼠에 있어서는 39~49日 사이의 11日 동안이었고 家兔에 있어서는 49~63日 사이의 15日 동안이었으며 黑山羊에 있어서는 68~88日 사이의 21日 동안이었다. 그리고 平均卵子排出開始日은 各各 41日, 44日, 56日 및 78日이어서 黑山羊에 있어서는

마우스 및 白鼠에 있어서보다 약 5週日이, 그리고 家兔에 있어서보다 약 3週日이 늦었으며, 家兔에 있어서는 마우스 및 白鼠에 있어서 보다 약 2週日이 늦었다.

Dawes & Houghes<sup>10)</sup>의 실험에 의하면 肝蛭의 皮낭유충이 투여되어 일단 탈낭하게 되면 유충의 일부분은 腸壁을 穿通할 때 혈관내로 들어가 간장에 이르거나 직접 담관내로 들어가기도 하나 대부분은 24時間 이내로 복강내로 나오고 4~6日 사이에 간장내로 들어가 동물종에 따라 3~4週日 동안, 길게는 약 7週日동안 肝實質内를 이행한 후 小膽管内로 들어가며 經時的으로 主膽管에 이르게 되고 여기에서 2~3日이 지나면 卵子가 形成되기 시작하며 다시 1週日이 지나게 되면 난자는 분변에 섞여 비로소 外界로 배출된다.

이와 같은 동물체내에서 營爲되는 생활사의 日程을 근거로 본 성적을 정리해 보면 마우스에 있어서는 感染후 31日쯤에, 白鼠에 있어서는 34日쯤에, 家兔에 있어서는 46日쯤에, 그리고 黑山羊에 있어서는 68日쯤에 담관내로 들어가는 것으로 되며 각각 34日, 37日, 49日 및 71日쯤에는 성숙에 이르러 난자가 형성되기 시작하는 것으로 推算되었다.

Houghes<sup>9)</sup>의 실험적 관찰에 의하면 肝蛭의 유충이 肝實質로부터 담관내로 들어가는 時期 및 外界로의 난자배출개시일은 마우스에 있어서는 각각 29~32日 및 44~56日이었으며 家兔에 있어서는 45~55日 및 51~63日로서 본 실험의 마우스 및 家兔에서 보여준 성적과 매우 類似하였다. 또한 그의 관찰<sup>9)</sup>에 따르면 緬羊에 있어서는 담관내로 들어가는 時期는 대체로 感染후 56日 前後이지만 빠를 경우에는 40日에도 들어가고, 난자 배출은 55日쯤부터 시작되어 77日쯤에는 대다수에 있어

이루어지나 늦어도 14주까지는 감염동물 全例에서 이루어졌는데 본 실험에서 사용한 黑山羊에 있어서도 그것들과 유사한 수준의 성적을 보이고 있어 緬羊과 黑山羊에서 영위되는 肝蛭의 생활사는 매우 비슷한 것으로 추정되었다.

한편, 白鼠에 관해서는 과거의 성적이 없기 때문에 비교 고찰이 불가능하였으나 마우스에 있어서보다는 늦었으며 家兔 및 黑山羊에 있어서보다는 빨라 동물이 클수록 담낭내로 들어가 성숙에 이르는데 보다 긴 時間이 所要됨을 알 수 있었다.

본 실험에서의 동물종에 따른 총체의 회수율 및 개체당 평균 총체부하수는 마우스에 있어 27.7% 및 1.7마리, 白鼠에 있어 10.7% 및 1.1마리, 家兔에 있어 36.0% 및 10.8마리, 그리고 黑山羊에 있어 42.7% 및 21.3마리로 나타나 黑山羊에 있어 가장 우세하였다. 마우스, 家兔 및 黑山羊에 있어서는 相當數의 총체가 담낭내에서도 검출되었다. 그러나 白鼠에는 담낭이 없기 때문에 상대적으로 총체수가 적을 수도 있겠지만 훨씬 小動物인 마우스에서 나타난 총체회수율 및 개체당 총체부하수의  $1/3 \sim 1/2$ 에 불과하였다.

Dawes & Houghes<sup>10)</sup>에 의하면 총체회수율은 마우스에 있어서는 약 30%이며 家兔에 있어서는 약 37.2%이어서 비교적 良好한 실험동물이 된다고 하였거니와 본 성적도 이들과 유사하게 나타나 肝蛭의 실험동물로서의 價値가 인정되나 自然感染例를 구할 수 없으며 또한 개체당 총체부하수가 寡少한 것 등이 흠이라고 지적할 수 있겠다. 그리고 緬羊에 있어서의 총체회수율은 39.1%이어서 黑山羊에서 示顯된 본 성적과 역시 유사하였고 개체당 총체부하수도 가장 많았으며 자연감염례도 비교적 쉽게 구할 수 있어 실험동물로서의 活用價値가 가장 크다고 認定되나 비경제적이라는 데에 問題가 있다 하겠다.

한편, 白鼠에 있어서는 감염률이나 총체회수율이 低調하였고 개체당 총체부하수도 과소하였으며 또한 자연감염례도 구할 수 없기 때문에 特殊한 경우를 제외하고는 실험동물로 사용하기는 적절하지 않다고 생각되었다.

## 結 論

肝蛭感染에 관한 실험에 選擇적으로 사용할 수 있는 동물종을 찾기 위하여 마우스, 白鼠, 家兔 및 黑山羊을 사용하여 人工적으로 배양한 肝蛭의 피낭유충을 투여, 감염시킨 후 동물종별로 분변내 난자검사에 의한 감염률 및 난자배출개시일과 剖檢에 의한 총체회수율 및 개체당 총체부하수를 조사하였다.

그 結果를 要約하면 다음과 같다.

1) 마우스, 家兔 및 黑山羊 모두에 있어 분변내에서 난자가 검출되어 한가지로 100%의 감염률을 보였으나 白鼠에 있어서는 73.3%로 低調하였다.

2) 外界로의 난자배출개시일(평균개시일)과 期間은 마우스에서는 37~46日(41日)사이의 10日間, 白鼠에서는 39~49日(44日)사이의 11日間, 家兔에서는 49~63日(56日)사이의 15日間, 그리고 黑山羊에서는 68~88日(78日)사이의 21日間으로 나타나 宿主動物이 클수록 총체가 성숙하는데 보다 긴 기간이 소요됨이 인정되었다.

3) 총체회수율 및 개체당 총체부하수는 각각 마우스에 있어 27.7% 및 1.7마리, 白鼠에 있어 10.7% 및 1.1마리, 家兔에 있어 36.0% 및 10.8마리, 그리고 黑山羊에 있어 42.7% 및 21.3마리로 나타나 黑山羊이 肝蛭의 가장 좋은 實驗動物種으로 인정되었다.

## References

- 1) Soulsby EJJ : *Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals*. 7th ed. Bailliere Tindall, London 1982 : pp766
- 2) 吉村裕之 : 人畜共通寄生虫感染病, 衛生檢査 1975 : 24(3) : 155-171
- 3) Ross JG : *The economics of Fasciola hepatica infections*. *Bri Vet J* 1970 : 133 : 126-133
- 4) 小野豊 : 家畜寄生虫病診斷學, 文求堂 東京 1970 : pp272

- 5) Olsen OW : *Liver fluke in cattle. The Cattle Man* 1944 : 31 : 19-24
- 6) 林永文·金三基 : 韓牛의 内部寄生虫 分布調査. 農事試驗研究報告書 1964 : 7(3) : 74-80
- 7) Robbins SL : *Textbook of pathology with clinical application. 2nd ed. WB Saunders Co. Philadelphia* 1962 : pp335
- 8) Isseroff H : *Fasciola hepatica, bile duct enlargement induced in rats after intraperitoneal implantation. Exp Parasit* 1977 : 41 : 402-409
- 9) Houghes DL : *Some studies on the host-parasite relations of Fasciola hepatica. PhD Thesis University of London* 1963 : pp23
- 10) Dawes B, Houghes DL : *Fascioliasis ; the invasive stages of Fasciola hepatica in mammalian hosts. Adv Parasit* 1964 : 2 : 97-168
- 11) 閔弘基 : 人獸共通寄生虫의 疫學的 調査研究. 기생충학잡지 1981 : 9(1) : 60-75
- 12) 田桂植 : 韓國의 人獸共通蠕蟲類에 關한 文獻的 研究. 最新醫學 1987 : 30(9) : 119-132
- 13) 金壽厚·金哲秀·李芳煥 : 濟州道소의 内部寄生 虫調査. 大韓獸醫學會誌 1968 : 8(2) : 92-98
- 14) 一色於菟四郎 : 어린 朝鮮牛에 對한 肝蛭의 感染 率과 異所寄生例 및 寄生에 起因되는 多發性 巢 狀性 肝臟炎. 朝鮮博物學會雜誌 1947 : 39 : 21-39
- 15) 田桂植·張斗煥 : 肝蛭의 疫學的 研究. 獸醫大論 文集 1980 : 5(1) : 115-129
- 16) 李柄都·林永文·金三基 : 豚内部寄生虫調査. 家 畜衛生研究所報 1963 : 9(1) : 65-70
- 17) Brooke MM, Swartzwelder C, Payne FJ, Weins- tein, P, Frye WW : *Intestinal parasite survey of Ko- rean prisoner-of war camp. US Armed Forces Med J* 1956 : 7 : 708-714
- 18) 허 선·강 구·신형식·박영의·장봉림·한덕 중·채종일 : 복강내 인체 *Fasciola sp.* 감염 1례. 1990년도 대한기생충학회 춘계학술대회발표회 순서 및 초록 p10
- 19) 朱鼎均·金英奎 : 韓國産 肝蛭의 分類學的 研究. 기생충학잡지 1967 : 5(3) : 139-146
- 20) Malek EA : *Laboratory guide and note for medical malacology. Burgess Publishing Co. Minn* 1962 : pp 154