

榮州地方에 分布하는 絲狀蟲 仔蟲에 對한 形態學的 研究

金 薰 洙* · 宋 在 洙**

(* 成大 · 理工大 · 生物學科 ** 保社部 · 保健局)

Morphological Study of Microfilariae Found in the Area of Yongju-Gun

KIM, Hoon Soo* and Jae Soo SONG**

(*Dept. of Biology, Sungkyunkwan University)

**Ministry of Health and Social Affairs

(1965. 2. 25 接受)

SUMMARY

The object of this study is to identify the genus and species of the microfilariae which were recently found in the area of Youngju-Gun. The identification of the microfilariae was made on the morphological aspects.

1. Blood samples were collected through vena puncture from known microfilariae carriers living in the newly confirmed filaria endemic area of Youngju-Gun in Kyongsang Pukdo Province. Youngju-Gun is located in the mountainous central part of Korean Peninsula.
2. The following fixation and staining techniques were applied:
 - (1) Fixation by drying in the air, followed by staining with Azeo or Giemsa.
 - (2) Knott's fixation method (2% formalin), followed by staining with Azur II.
3. A comparative study of the body length of the microfilariae after different fixation and staining techniques were applied:
 - (1) Knott's fixation method followed by staining with Azur II: average body length found was 284.8 μ .
 - (2) Dry fixation followed by staining with Giemsa: average body length found was 209.4 μ .
 - (3) Dry fixation followed by staining with Azeo: average body length found was 205.4 μ .
4. The locations of the different body cells were measured in 60 individuals of microfilariae in the wet preparation fixed by Knott's method and stained with Azur II. The distance of the different body cells to cephalic apex of microfilariae was measured and calculated as a percentage of the total body length. The average results are as follows:
BNC, 3.04%; N, 22.74%; EP, 31.4%; EC, 37.77%, G₁ cell, 67.94%; G₂ cell, 73.54%; G₃ cell, 75.55%; G₄ cell, 77.65%; AP, 82.02%.
5. As a result of the above findings the microfilariae found in the above mentioned area could be identified as *Brugia malayi* (BRUG, 1927) BUCKLEY, 1960.

緒 論

Brugia malayi (BRUG)는 Brug(1927)가 Malaya 群島에서 처음으로 發見한 以來 그의 地理的 分布의 幅은 相當히 넓어 WHO Expert Committee on Filariasis (*Wuchereria* and *Brugia* infection)(1962)에 依하면 東洋의 熱帶, 亞

熱帶地方은 勿論 溫帶地方의 여러곳에까지 分布되어 있음이 많은 人士에 依해 報告되었다.

우리나라에도 本蟲은 尹(1926), 吳(漢)(1929), 吳(世)(1930), 文(1939), 白(1958), 李等(1964) 및 Seno等(1951), Hunter等(1948) 黃等(1963)에 依해 濟州島를 비롯해서 一部 內陸地方에까지 널리 分布하고 있

음이 報告되었으나, 種의 同定方法이 分明하지 못한 點이 많았다. 그 方法에 있어서 지금까지는 全部가 仔蟲의 外形의인 모양과 尾核의 存在 有無만으로써 種을 同定하였을 뿐이었다.

그러나 *Brugia malayi*의 Microfilariae(以下 Mf. 로 略稱)는 屬은 다르나 같은 住血 人體寄生性인 *Wuchereria bancrofti* COBBOLD, 1877 (Craig and Faust, 1957)의 Mf. 와 形態가 비슷하며 分布地域도 거의 같으므로 이들의 Mf. 의 屬과 種의 同定이 때로는 論議를 惹起하여왔다. Feng(1933)이 Mf. 의 鑑別을 形態學的인 面에서 試圖해본 바 *Brugia malayi*의 Mf. 와 *Wuchereria bancrofti*의 Mf. 사이에는 顯著히 區別할 수 있는 構造의 差異가 있다는 것을 認定했으며 그 構造와 定點이 蟲體 全長의 몇% 部位에 位置하고 있는지를 計測함으로써 그 種을 同定할 수가 있다고 하였다.

著者等은 1963年 8月에 慶尙北道 榮州郡 安定面에서 새로운 Mf. 의 分布地域을 發見하였으므로 Mf.의 形態學的인 構造를 考察하고 定點을 測定함으로써 그 種의 同定을 試圖하고 體細胞의 形態學上의 特徵을 比較 檢討하였다. 그리고 Mf. 의 體長은 標本製作法, 特히 乾燥의 速度와 固定法에 依해서 커다란 差가 생긴다는 것이 Feng (1933)에 依해 指摘된 바 있으므로 相異한 固定方法을 使用한 標本으로 Mf. 의 體長을 測定하여 그 差異의 樣相을 考察하여 보았다.

本研究은 1963年 10月부터 1964年 9月까지의 사이에 行해진 것으로 本研究을 함에 있어서 貴重한 文獻의 貸與 其他 技術的인 助言을 해 주신 延世大學校 醫科大學 寄生蟲學敎室 蘇嶺卓, 李根泰 兩博士 및 金鍾煥先生에게 深謝를 드린다. 그리고 本實驗 過程中 便宜와 助言을 해주신 白永漢 博士에게도 아울러 깊은 感謝를 드린다.

材料 및 方法

本實驗의 材料는 著者等이 1963年에 慶尙北道 榮州郡 安定面 新田 1, 2 洞에서 保蟲者로 確認된 29名 中에서 Mf. 의 血中 蟲數 密度가 가장 높은 9名을 選定하여 Mf. 의 出現性이 높은 午後 11時에 採血하여 얻었다. 黃等(1963)에 依하면 우리나라에 分布하는 Mf. 는 夜間 出現性(nocturnal periodicity)이 있으며 末梢 血液에서 Mf. 의 出現이 가장 높은 時間은 午後 9時부터 午前 3時까지의 사이임이 報告된 바 있으므로 本實驗에서도 材料는 午後 11時에 保蟲者의 右腕 靜脈에서 採血하였으며 採血한 材料는 凝固를 防止하기 위해 double oxalate 瓶을 使用하였다.

固定方法에 따른 蟲體의 體長의 變化를 보기 위해 採血塗沫標本을 作成하여 自然 乾燥 固定을 하였고 나머지의 材料는 Knott氏 固定法으로 處理하였다. 血液塗沫標本은 一定한 面積 속에 보다 많은 Mf. 을 集蟲 시키기 위해서 直徑 20mm 程度의 厚層標本을 同時에 만들었다. 屈曲된 蟲體는 加熱함으로써 伸長되어 蟲體 測定時 便利하므로 血液標本을 만들때 塗沫表面에서 水蒸氣가 多少 올라올 程度로 若干 加熱을 하였다. 이와 같이 製作한 標本은 各各 다음과 같은 染色法으로 染色하였다.

Giemsa 染色: 充分히 乾燥하여 固定이 된 標本을 檢鏡時 蟲體 觀察에 障害가 되는 赤血球를 除去하기 위하여 溶血을 시키면서 染色을 하는 厚層標本 染色方法을 使用하였다. 染色時間은 薄層標本 染色時보다 길게 주었으며 反面 染色原液의 稀釋倍數는 더 높혀 1:50 이 되도록 하였고 染色時間은 40分 乃至 50分으로 하였다.

Azco 染色(Sasa, 1963): 染色液의 組成은 Azur II 와 cosin 을 absolute methyl-alcohol로 各各 1% 溶液을 만든 다음에 蒸溜水로 0.4%로 稀釋해서 原液으로 保存한다. 使用時 Azur II 는 0.04%로 稀釋하고 cosin 은 0.02%로 稀釋해서 同量의 上記 染色液을 混合한 다음에 10% Na₂HPO₄ 數滴을 加하여 使用한다.

Mf. 의 蟲體는 乾燥 固定時에는 蟲體가 甚히 萎縮됨으로 蟲體의 形態를 考察하고 定點을 測定 하기 위한 操作으로서는 Knott氏 固定方法을 應用하였다.

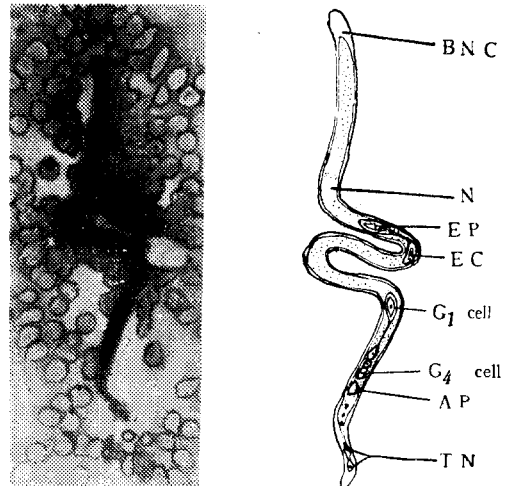


Fig. 1. Microfilariae of *Brugia malayi* found at Yongju. Left: Photomicrograph, applied drying fixation, stained with Giemsa's stain. Right: Schematic drawing showing the position of organs and cells; BNC=Cephalic space, N=Nerve ring, EP= Excretory pore, EC=Excretory cell, G₁ cell =Giant 1 cell, G₄ cell=Giant 4 cell, AP=Anal pore, TN=Tail nuclei.

Knott氏 固定方法(Belding, 1952): Knott氏 固定方法은 2% formalin으로 Mf.의 蟲體를 固定함과 同時에 集蟲하는 方法이다. 操作은 lacked blood method(蘇鎮卓: 寄生蟲病, 1964引用)와 同一하나 本實驗의 目的을 위해서 便宜上 아래와 같이 變法을 使用하였다. 그 操作 過程은 (1) 15 ml.의 cornical tube에 1 ml.의 血液을 넣고 10 ml.의 2% formalin과 混合한다. (2) 10分間 放置하고 때때로 가볍게 흔든다. 赤血球는 破壞되고 Mf.는 formalin에 固定이 된다. (3) 1,500—2,000 R.P.M.으로 2分間 遠心 沈澱시킨다. (4) 上清液은 버리고 沈澱物을 씻기 위해서 10 ml.의 2% formalin을 다시 加해서 가볍게 흔든 後에 다시 遠心沈澱시킨다. (5) 再次 上清液을 버리고 沈澱物의 3 倍의 0.5% Azur II 染色液을 加한 後에 生理食鹽水로 若干 稀釋을 하여 3—4分 染色한다. (6) slide 위에 毛細管 pipette로 한 방울의 被檢物을 떠러뜨린 後에 cover glass로 덮어 觀察한다.

本 實驗에서 各 染色方法別, 固定方法別 蟲體 體長 測定과 構造와 定點의 觀察에는 Mf. 60個體씩을 使用하였다.

結 果

Knott氏 固定方法으로 處理한 Mf.의 構造와 定點을 60個體에서 計測 하였던 바 BNC는 頭端으로부터 體長

의 3.04%를 占하고 있었고 N (Nerve ring)는 頭端으로부터 體長의 22.74%의 部位에 있었다. EP (Excretory pore)는 蟲體의 거의 體幅만큼 큰 橢圓形의 腔으로 되어 있어 쉽게 識別 할 수가 있었으며 頭端으로부터 31.49%의 場所에 있었다. EC (Excretory cell)는 EP에서 떨어져 相當히 間隔이 있었으며 頭端으로부터 37.77%의 位置에 자리 잡고 있어 그 모양은 길쭉 하였다. G₁ cell은 매우 컸으며 G₂, G₃, G₄ cell 등은 G₁ cell 程度의 半 크기 밖에 안되었으며 뚜렷하지 않았다. G₁ cell은 頭端으로부터 67.94%의 位置에 있었다. AP (Anal pore)는 體幅의 半程度의 크기였고 外皮에 開孔되어 있는 것이 뚜렷 하였으며 百分率 거리는 82.02%였다. 尾核에서 核柱가 끝나는 部位에서 相當히 떨어져서 核이 桿狀을 나타내고 있었다.

乾燥固定을 하여 染色한 標本과 Knott氏 固定法으로 操作한 標本을 比較해서 Mf.의 蟲體의 體長을 測定한 結果는 Table 1과 같다.

考察 및 結論

Feng(1933)은 일찍이 *Wuchereria bancrofti*의 Mf.와 *Brugia malayi*의 Mf.의 蟲體의 構造와 定點을 比較하여 種을 鑑別하였고 林(森下 薰 編集 1958 參照)은 日本 八丈小島에서 *Brugia malayi*의 Mf.의 蟲體의 構造와 定

Table 1. Showing the length of microfilariae in different staining and fixation.

Method of Fixation	Method of Staining	Average Length(μ)	Range(μ)	Standard Deviation	Standard Error
Knott	Azur II	284.8	273.4~302.9	7.90	3.08
Natural drying	Giemsa	209.4	188.9~229.8	10.28	4.39
	Azeo	205.4	179.8~230.9	12.10	4.63

Table 2. Showing the percentage length of cells and organs of microfilariae

Locality Species	China		Hachijoshima Japan	Yungiu Korea
	<i>bancrofti</i>	<i>malayi</i>	<i>malayi</i>	<i>malayi</i>
Cells and organs				
BNC	1.58%	3.18%	3.82%	3.04%
N	18.77	20.72	22.62	22.74
EP	28.95	30.09	31.42	31.49
EC	30.75	37.07	37.99	37.77
G ₁ cell	70.14	68.33	67.17	67.94
G ₂ cell	79.5	73.82	74.71	73.54
G ₃ cell	80.74	76.02	76.89	75.66
G ₄ cell	81.99	78.42	78.83	77.65
AP	82.43	82.28	81.64	82.02
Reporter	Feng 1933		Hayashi 1951	Present authors 1964

點을 測定한 바 있는데 그 測定 結果를 著者が 測定한 結果와 比較하면 Table 2와 같다.

榮州地方에 分布하고 있는 Mf.의 構造와 定點의 測定 値를 Feng(1933)이 測定한 *Wuchereria bancrofti*의 Mf.의 構造와 定點의 百分率 거리를 比較 考察하여 보면 BNC는 *bancrofti*에서는 1.58% 인데 比해 榮州에 分布하는 Mf.는 3.04%이며 明確한 差가 있고 N도 또한 約 4%의 距離差가 있다. 그리고 EC는 約 7%의 距離差가 있음뿐더러 그 構造에 있어서도 *bancrofti*에서는 EP의 바로 뒤에 있고 작으나 著者が 觀察한 Mf.에서는 EP의 훨씬 뒤에 있었고 그 크기가 相當히 컸다. G cell들도 *bancrofti*에서는 G₁ cell이 다른 G cell 들의 크기와 近似하였으나 著者が 測定한 Mf.에서는 G₁ cell은 커서 거의 體幅을 占하고 옆으로 길쭉 했으며 다른 G cell의 半 程度의 크기 밖에 되지 않았다. AP에서도 크기는 體

幅의 半 以上을 占하고 있으나 *bancrofti*의 그것은 아주 작다고 하였다. 特히 尾端部에서 보던 *bancrofti*에서는 一連의 核柱가 끝난뒤에 核이 없으나 著者が 觀察한 Mf.는 一連의 核柱가 끝난 뒤에 相當히 벌어져서 작은 尾核이 普通 2個가 있었으며 桿狀이었다. 이와 같이 蟲體의 構造와 定點의 頭端으로부터의 百分率 거리를 比較해 보아 뚜렷이 *Wuchereria bancrofti*와는 種이 다른 것임을 確認하였다. 또한 Table 2에서 보는 바와 같이 Feng 및 林이 測定한 結果의 *Brugia malayi*의 Mf.의 構造와 定點의 百分率 거리와는 近似하나 *Wuchereria bancrofti*의 Mf.의 測定 結果와는 懸隔한 差가 있었다. 또한 Genus *Brugia*에 屬하는 Mf.는 動物에 寄生하는 *B. patei*, *B. pahangi* 및 *B. buckleyi* 등이 있으나 人體에 寄生하는 種으로는 오직 *Brugia malayi*가 있을뿐이다. 故로 著者は 榮州地方의 Mf.는 *Brugia malayi* (BRUG, 1927) BUCKLEY, 1960로 同定한다.

著者は 또한 乾燥固定한 標本과 Knott氏 固定法으로 操作한 標本の 蟲體의 體長을 測定 比較하여 보았다. Table 1.에서 보는 바와 같이 Knott氏 固定方法으로 處理한 標本에서의 蟲體의 體長이 平均 $284.8 \pm 3.08\mu$ 이며 乾燥塗沫標本の Giemsa 染色標本에서 $209.4 \pm 4.39\mu$ 이고 Azeo 染色標本에서 $205.4 \pm 4.63\mu$ 이었다. 이 標本들이 同一한 材料였다는 것을 考慮할 때 乾燥固定을 한 標本에서는 蟲體가 分明히 萎縮 했다는 것을 말하는 것으로 Knott氏 法으로 固定 處理한 標本에 비해 Giemsa 染色標本에서는 72.11%로 萎縮되었다.

摘 要

著者は 1964年 8월에 榮州郡 安東面의 住民中 絲狀蟲의 保蟲者로 確認된 29名中 保有蟲數 密度가 높은 9名으로부터 蟲體 出現性이 가장 높은 午後 11時에 採血한 血液을 材料로 하여 *Microfilariae*의 形態上의 特徵을 檢討한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

(1) 固定方法 別로 蟲體의 體長을 比較測定 하였던 바 Knott氏 固定方法으로 操作하여 Azur II 染色을 한 標本에서는 $284.8 \pm 3.08\mu$ 이 었으며 乾燥 處理하여 Giemsa 染色을 한 標本에서는 $209.9 \pm 4.39\mu$ 이 었고 Azeo 染色을 한 標本에서는 $205.4 \pm 4.63\mu$ 이 었으므로 乾燥固定方法이 蟲體 體長을 甚히 萎縮케 한다.

(2) *Microfilariae* 蟲體의 構造와 定點을 測定한바 定點의 百分率 距離는 BNC 3.04%, N 22.74%, EP 31.47%, EC 37.77%, G₁ cell 67.99%, G₂ cell 73.54%, G₃ cell 75.66%, G₄ cell 77.65% 이고 AP는 82.02% 였으며 蟲體의 構造가 이미 觀察 報告된 *Wuchereria bancrofti*

의 Mf.와 顯著한 差異가 있다.

(3) 蟲體의 構造를 觀察하고 또 그 諸構造의 定點을 測定한 結果 榮州地方에 分布하는 絲狀蟲의 種은 *Brugia malayi* (BRUG, 1927) BUCKLEY, 1960 임을 確認하였다.

文 獻

- Belding, D.L., 1952. Text Book of Clinical Parasitology. Appleton-Century, Crofts, Inc. New York. 966.
- Brug, S. L., 1927 *Filaria malayi* n. sp. Parasitic in men in the Malayi Archipelago. *Trans. Far. Assn. Trop. Med.* 3, 279-298.
- Buckley, J.J.C., 1960. 横川定・森下薫・横川宗雄 共著, 人體寄生蟲學 提要 杏林書院 1963年版 204
- Craig and Faust, 1957. Clinical Parasitology. Lea and Febiger, Philadelphia. 475.
- Feng, S. L., 1933. A comparative study of anatomy of *Microfilariae malayi* Brug, 1927 and *Microfilariae bancrofti* Cobbold, 1877. *Chinese Med. J.* 47, 1214-1216.
- Hunter, C. W. III, L.S. Ritchie and I. C. Chang, 1948. Parasitological survey in the Far East: Epidemiological survey in South Korea. *J. Parasit.* 35(suppl.), 41.
- 李根泰 外 3人, 1964. 濟州島民의 絲狀蟲 感染에 關한 疫學的 調查研究. *J. Korean Med. Assn.* 7:7, 657-663.
- 文仁柱, 1939. 朝鮮に 於ける 地方病性 象皮病研究. 朝醫雜. 29, 697.
- 吳漢永, 1929. Filariasis in Korea. *The China Med. J.* 43, 16.
- 吳世南, 1930. 朝鮮に 於ける 地方病 象皮病に 就いて, 朝滿醫界 120, 25.
- 尹日善, 1926. 朝鮮に 於ける *フィラリア*에 因する 象皮病. 朝醫雜 69, 926.
- 白永漢 外 3人, 1957. 論山地方에서 filariasis의 疫學的 調查. 綜合醫學 2, 1483.
- Sasa, M. and Others, 1952. Studies on Filariasis due to *Wuchereria malayi* (Brug, 1927) discovered from Hachijo-Koshima island, Japan. *Jap. J. Exp. Med.* 22, 357-390.
- 佐佐學, 1958. 森下 薫 編集 最新寄生蟲學 VII. 東京書院 16.
- Sasa, M. and Others, 1963. Studies on Epidemiology and Control of Filariasis and *Microfilariae* Survey in the Amami island, South Japan. *Jap. J. Exp. Med.* 33:1, 47-67.
- Seno, T. and D.R. Lincicome, 1951. Malayan filariasis: Incidence and distribution in South Korea. *U.S. A. F. Med. J.* 2:10, 1483-1489.
- 蘇鎮卓, 1964. 寄生蟲病, 富民社. 247.
- 黃鍾顯 外 3名, 1963. 慶尙北道 榮州郡에 있어서의 象皮病 患者 및 絲狀蟲 仔蟲 保有者에 關한 報告. 大韓寄生蟲學會 第5回 學術大會 抄錄集 30.
- WHO Expert Committee on filariasis (*Wuchereria* and *Brugia* infection), 1962. *WHO Tech. Report Series No.* 233, 6.