

糞에 排泄되는 寄生虫의 虫卵과 原虫의 囊子를 檢査하는데 使用하는 沈澱法과 浮游法의 比較

(第二回)

서울大學校 農科大學 獸醫學科 寄生虫學教室

張 斗 煥

A Comparison of the sedimentation and flotation method used in the detection of parasitic ova and protozoan cysts in feces (11)

Section of Veterinry Medicine, College of Agriculture, Seoul National University, Du Hwan Jang D.V.M., M.S.

II 沈游法과 沈澱法の 比較

虫卵檢査에 있어서 이 沈澱法과 浮游法은 그 原理의 差異때문에 어느편이 좋으나하는 問題가 되어 왔는것이다. 이 問題의 解決策으로서 次에 여러 研究者들의 文獻을 綜合하여 보고저 한다.

1. 一般的考察

寄生虫卵 및 囊子를 檢査하는 先決要件은 糞中에 있는 여러 雜物과 分離시켜 集卵하는것이다. 이 目的으로서 두가지 方法인 沈澱法과 浮游法은 그 原理가 比重에 依存되어있다. 卽 檢査에 使用되는 液體의 比重과 虫卵의 比重과의 相互關係를 利用하는 것이다.

此에 몇개의 虫卵과 囊子の 比重 및 使用하는 檢査液의 比重을 例擧하면 다음과 같다.

虫卵 및 囊子	比重
Entamoeba spp.	1,065-1,070
Chilomastix mensnili	1,180-
Giardia lamblia	>1,060
十二指腸虫	1,055-1,150
蛔虫	1,110-1,200
鯉虫	>1,150-1,180
鞭虫	>1,150-1,200
吸虫類	<1,200-
檢査液	比重
水	1,000
에틸 鹽酸	1,030(30)
10%에 질알콜	0,986(26)

硫酸나트륨	1,080(61)
鹽化칼슘	1,050-1250(7)
M.I.F.C. 溶液	0,983(10)
鹽水(소금물)	1,200(52)
雪糖콜	1,200-1,300(43.28)
硫鹽亞鉛	1,180(16), 1,380(28)
硝鹽나트륨	1,400(28)
硫酸마구내슘	1,285(28)
Potassium mercuri iodide	1,680(whitlock, 1950)

위의 表에서 보면 虫卵과 囊子の 比重이 1,050에서 부터 1,150까지의 範圍에 속하는것이 普通이고 단지 吸虫類의 虫卵比重만이 1,200以上에 屬한다. 故로 浮游法에서는 檢査液의 比重을 虫卵의 比重보다 높은것을 沈澱法에서는 낮은것을 使用하는것이다. 또한 이 檢査液이 具備하여야할 要件은 虫卵이나 囊子の 形態에 影響을 주지 않아야하며 또한 檢査에 使用되는 器具의 損傷이 없어야 한다. 이 以外에도 檢査液의 特殊한 性質, 檢査時間 및 空間等의 諸條件이 關聯된다. 卽 어떤 方法은 그 順序를 밟아 가는데 오랜 時間이 걸리게되며 어떤 檢査液은 顯微鏡을 腐蝕시키고 또한 空間의으로 넓은 곳을 必要로하는 方法도 있다.

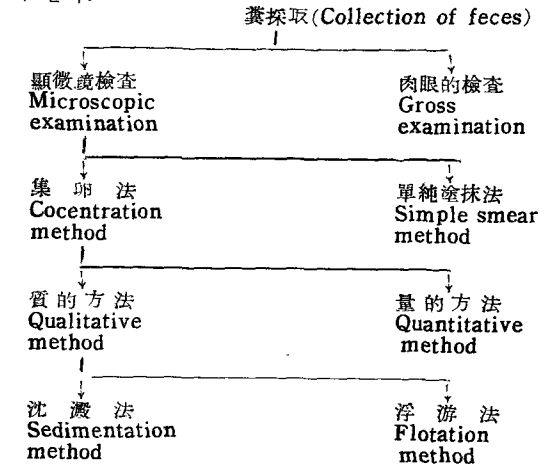
虫卵檢査에 있어서 遠心分離器는 時間의 節約에 많은도움을 해왔다. Baroody氏는(3) 물遠心分離法에 10分間所要되었다고 報告했으며 Blagg諸氏는(10) M.I.F.C法을 4分間에 끝냈인다고 했다. Maldonado 諸氏는 그리세린 水沈澱法이 Sodium triton-ether Centrifugation法에 比하여 時間이 짧게 든다고 했고 de Rivas氏는(13) 自己가 考案한 에틸醋水酸法은 2-3

分間이면 充分하다고 말했다.

Loughlin과 Spits諸氏は 檢査에 强酸을 使用하면 虫卵의 形態가 이그리지고 커버그라스에서 새어나온 液體는 顯微鏡을 腐蝕시킨다고 말했다.

2. 現今까지 報告된 諸檢査法

糞檢査法을 系統的으로 區分하고 오늘날 까지 報告된 方法(沈澱法과 浮游法)을 綜合하여 區分하면 다음과 같다.



A. 沈澱法—Sedimentation Method

- I. 單純沈澱法 Simple Sedimentation Method (Stile 1902)
 - 1) Straining technique
 - 2) Centrifugation technique
- II. 빠스氏鹽化칼슘法 Bass Calcium Chloride Method (Bass, 1909)
- III. 텔라만 鹽酸에 펠法 Telemann Ether Hydrochloric Method (Telemann, 1908)
 - 1) Yavita's antiformin-ether technique (Moenell, 1913)
 - 2) de Rava s acetic ether technique(de Rivas, 1928)
 - 3) Acid ether xylene (AEX) technique (Loughlin & Stoll, 1946)
 - 4) Acid triton-ether technique (Weller & Dammin, 1945)
 - 5) Sodium sulfate triton-Ne-ether technique (Faust & Ingall, 1946)
 - 6) Acid-sodium-sulfate-triton-Ne-ether technique (Hunter et al., 1948)
 - 7) Saline Aerosol-ether-xylene (CEX) techn-

ique (Loughlin & Spitz, 1949)

8) Formalin-ether-technique (MGL) (Wykoff and Ritchie, 1952)

VI. 물遠心分離法—Water Centrifugal Method (Faust & Meleney, 1924)

1) Baroody's modified technique (Baroody and Hopper's technique (Swanson & Hopper, 1950).

V. Merthiolate Iodine Formaldehyde Concentration Method (Blagg et al., 1955)

B. 浮游法—Flotation Method

I. 빠스氏鹽水法—Bass' Salt Solution Method (Bass, 1906)

- 1) Calcium chloride technique (Bass, 1909)
- 2) Kofoid and Barber technique (Baber Kofoid, 1918)
- 3) Willis brine flotation technique (Willis, 1920)
- 4) Fülleborn technique (Fülleborn, 1924)

II. 雪糖水浮游法—Sugar Flotation Method (Sheather, 1923)

III. 硫酸亞鉛遠心分離法—Zinc Sulfate Centrifugal Method (Faust et al, 1938)

- 1) Cupric nitrate technique (Garcia & Pesigan, 1940)
- 2) Summer's modified technique (Summer, 1942)
- 3) Baroody's modified technique (Baroody, 1946)
- 4) Watson's modified technique (Watson, 1947)

3. 諸方法의 差異

系統的으로 糞檢査法을 區分한바와같이 檢査는 肉眼의 및 顯微鏡의인 方法으로 大別되며 前者는 虫卵이 排硬에 나타나지 않는 線虫類 (Cyclophyllidea)의 體節을 檢出해 내며 其他의 線虫類의 虫體混合 如何도 보는것이다. 顯微鏡의 方法은 勿論 顯微鏡을 使用하는 一切의 方法들을 말하며 이것을 區別하여 塗抹法과 集卵法으로 나눈다 前者는 糞을 直接 스퀘이드에 塗抹하여 보는것이고 後者는 含有된 虫卵을 集卵하여 檢査하는것이다.

集卵法은 다시 두가지로 나누워 量的과 質的方法으로 區分한다 量的的方法이란 糞 1g內에 包含된 虫卵의

數를 計算하여 이 E.P.G(虫卵數)로서 成虫의 感染程度를 推定하는것이므로 臨床的으로 그다지 意義가 없다고 본다 質的方法은 排便에 包含되어 있는 虫卵의 種類를 모다 檢出하여 내고저 하는 方法이며 이것을 虫卵의 比重을 考慮하여 檢査液의 比重을 높이든지 낮추든지 하는것이 다 卽 檢査液의 比重이 虫卵의 比重보다 높으면 虫卵은 沈澱되므로 그 方法은 沈澱法이 되고 檢査液의 比重이 虫卵의 比重보다 낮으면 虫卵은 浮游되므로 이 方法은 浮游法이 된다 이 두 方法에 있어서 遠心分離器를 使用하는 때와 그렇지 않을 때가 있으나 그 原理에 있어서는 變함이 없으며 단지 時間이 短縮될뿐이다.

A. 沈澱法 Sedimentation Method

이 方法은 糞에 色해진 虫卵이나 原虫의 囊子 및 胞子の 比重보다 높은 比重을 가진 化工業品의 溶液이든지 普通의 물에 材料(糞)을 稀석하고 自然의 重力이나 또는 人工의 遠心分離에 依하여 虫卵等을 沈澱시키는 것이다.

다음에 이 沈澱法들이 使用되는 年代順으로 그리고 그 方法의 焦點만을 記述하고 다음에 그 方法이 變更되어 使用됐던 例를 들어보기를 한다.

a). 單純沈澱法—Simple Sedimentation Method.

- 1). 糞을 10—20倍의 常水로 稀석한後 고흔 얼그미나 카재로 걸러 유리시린더에 받아 1—2時間 靜置한다.
- 2). 全體 稀석液의 上部 2/3를 버린다
- 3). 再次 물을 채우고 混合시킨 後에 1—2時間 靜置한다. 이렇게 몇번 뒤푸리하여 上澄液이 맑도록 시킨다.
- 4). 最後에 上澄液을 버린後 파이펠으로 슬라이드에 沈澱物을 옮겨 檢査한다.

이 方法은 Stile氏의 原方法을 再修正 한것이며 그 後 0.5% Glycerol을 물에 加하여 使用하였다(58) Hodges氏는(26) 10% EhyI Alcohol를 加해서 使用했다. Peper氏와 Brown는(22) 遠心分離器를 水洗에 使用했고 얼그미(Sieve)를 糞溶液의 濾過에 使用했다.

b). 巴斯氏鹽化칼슘法—Bass Calcium Chloride Method(Bass, 1909)

- 1). 糞을 1 : 10의 比率로 물에 溶解시켜 카재로 걸른다.
- 2). 遠心分離한後 上澄液을 버리고 또 이 處理를 되 푸리한다.
- 3). 比重1.050의 鹽化칼슘溶液을 最後의 沈澱物에 加한다.
- 4). 遠心分離하여 上澄液을 버리고 殘餘沈澱物을 檢査한다.

Garrison(1910)氏는 이 方法을 修正하여 使用했고

Wellmann氏는 醋酸鹽溶液의 두가지 比重 1.050과 1.250液을 使用했다.

c). 텔에만氏法—Telemann Method (Telemann, 1908)(64)

- 1). 유리棒으로 檢査材料의 다섯군데에서 糞의 程度의 糞을 다섯번 採取한다.
- 2). 採集한 糞에 50% 鹽酸을 加하고 混合시킨다.
- 3). 에델의 若干을 附加한後에 上下로 혼든다
- 4). 銅으로된 5인치크기의 고은 얼그미로 걸른다
- 5). 2—3分間 遠心分離한다
- 6). 上澄液을 버리고 殘液을 檢査한다

Mcneil(1913)에 依하면 Yavita氏는 鹽酸대신 25% Antiformin 5cc를 溶液에 使用하였고 de Rivas氏는 5% 水醋酸의 5cc를 썼다 Weller와 Dammin氏는 糞을 稀석하는데 食鹽水20cc를 그리고 鹽酸이 加해진 10% Triton Ne 水溶液 0.6cc를 使用하였다(50) Hunter諸氏는(24) Acid triton Ne ether 集卵法에 鹽酸2.5cc 硫酸소다 2.5cc Triton Ne 0.06cc 에델 5cc等을 使用하였다 Loughlin과 Stoll氏는 20% 鹽酸 3.5cc와 使用時에 만드른 에델 및 기시를의 同量溶液 5cc를 使用하고 그沈澱物에는 N/10의 苛性소다 한방울을 加하였다 Ritchie氏는 鹽酸과 에델대신으로 쉘마린에델 使用를 提案하였고 Hunter諸氏는(60) 硫酸나트륨과 세방울의 Triton을 併用하였다 또한 住血吸虫卵을 檢査하기爲하여 A.M.S. technique III를 考案하였다 Loughlin과 Spitz氏(29)는 顯微鏡을 腐蝕시키며 虫卵을 收縮시키는 鹽酸 대신으로 Sodium hexametaphosphate와 Sodium Sulfosuccinate를 그리고 常水와 기시를 대신으로 鹽化나트륨(食鹽)를 使用하였다 Carle와 Barthelemy는 또한 枸鹽酸과 에델을 썼다

d) 물遠心沈澱法—Water Centrifugal Sedimentation Method(Faust and Meloney, 1924)

- 1) Erlenmeyer후라스코에 10—15g의 糞을넣고 100 cc의 溫水를 加한 後에 고무마개로 막고 후라스코를 上下로 힘차게 혼든다
- 2) 두점의 젖은 가재로 濾過하여 50cc의 遠心分離管에 옮긴다
- 3) 1,500 rpm으로 30秒間 遠心分離한다
- 4) 上澄液을 버리고 50cc의 40°C常水를 加하고 다시 管口를 막고 上下로 흔들여 혼탁액을 만든다
- 5) 第3과 第4의 處理를 反復하여 上澄液이 맑도록 한다
- 6) 最後의 맑은 上澄液을 버리고 沈澱物을 나머있는 물과 混合시킨다
- 7) 파이펠으로 네방울의 沈澱液을 슬라이드에 옮겨

檢査한다

이 방법은 Faust 및 Meleney법을 Baroody와 Most氏가(3) 修正한것이다 그러나 이들 以前에 이미 Peper氏(35)가 처음으로 使用했으며 다음에 Howard氏는 十二指腸虫檢査에 大幅的으로 利用했든것이다 Faust와 Ingall氏는(17) 住血虫吸虫 虫卵檢査에는 물에 그리세린을 혼합할것을 附言하였으며 Swanson과 Hopper氏는(46) 이 방법을 修正하여 소의 吸虫類虫卵을 集卵시켰다 Rivera Anoya諸氏는(40) 1% Aluminum Sulfate 溶液을 물대신 使用했다

e) M.I.F.C.法-The Merthiolate Iodine Formaldehyde Concentration Technique(Blagg et al., 1955)

- 1) Merthiolate Iodine Formaldehyde溶液에 糞을 넣고 몇번 힘차게 上下로 흔들어 섞은 後에 두 점의 카재로 걸러 遠心分離管에 15cc를 넣는다
- 2) 遠心分離管에 에델 4cc를 加하고 管口를 막고 再次 힘차게 흔든다
- 3) 靜置 2分後에 1600 rpm으로 1分間 遠心分離한다
- 4) 分離管에 形成된 四層의 液體中에 上層을 이쑤 시개로 管壁에 붙은것을 떼어 놓은後 液下層만 남겨놓고 버린다
- 5) 沈澱層은 남아있는 液體와 混合한 後에 슬라이드에 옮겨 檢査한다

B 浮游法—Flotation Method

이 방법은 虫卵이나 囊子가 液體의 表面에 떠오르도록 보다높은 比重의 檢査液을 使用하는것이다 이것은 比重과 浮游라는 原理에 立脚하여 있으므로 自然的인 重力을 利用하든지 또는 그時間을 短縮시키기 爲하여 遠心分離器를 使用하는것이다

a) 바스氏鹽水法—Bass Salt Solution Method(Bass, 1806)

- 1) 規定된 量의 糞을 試驗管에 넣는다
- 2) 飽和食鹽水(9:1)를 試驗管의 $\frac{3}{4}$ 까지 채운다음 잘 混合시켜 靜置한다
- 3) 點滴器(Medicine dropper)로 液體表面에서 몇 방울을 슬라이드에 옮겨 檢査한다

Bass氏는 이 방법을 修正하여 鹽化켈슘을(比重 1.050) 썼으며 카재로 걸르고 마즈막 沈澱物에 鹽化켈슘(比重 1.250)을 소곰물대신 使用하였다 Fülleborn氏는(64) 特殊한 鐵器를 考案하고 그 오목파진 곳에 糞을 놓고 1:20으로 희석한 소곰물을 加하였다 그 溶液위에 세개의 커버그래스를 떠왔다가 슬라이드에 옮겨 덮고 檢査하였다 Koutz氏는(28,66) 鹽水대신 硝酸나트륨液(比重 1.400)으로 使用하였고 Kofoid와 Barber諸氏는(27) 液體表面의 虫卵을 옮기는데 Loop(鐵輪)을

考案했고 Willis氏는 試驗管에 檢査液을 充滿케 부어 넣고 슬라이드를 管口에 接合시켜서 虫卵을 옮기도록 했다

b) 雪糖浮游法—Sugar Flotation Method(Sheather 1923)

- 1) 糞을 常水에 희석한다
- 2) 얼그미로 희석液을 걸러서 遠心分離管의 半以下로 채운다
- 3) 飽和雪糖液으로 나머지 半以上을 채우고 上下로 흔들어 液解시킨다
- 4) 遠心分離器에 1500 rpm으로 3分間 돌린다
- 5) 머리가 둥근 유리棒으로 液體表面에서 슬라이드로 表面液을 옮겨 檢査한다

Benbrook氏는(65) 雪糖 454g를 常水 355cc에 溶解시킨후 石炭酸液0.7cc를 加하여 쓰도록 권했다 雪糖대신으로 Corn Syrup을 쓰기도 했다

c) 硫酸亞鉛集卵法—Zinc Sulfate Concentration Method(Faust et al., 1938)

- 1) 밤(栗)의 크기 정도의 糞과 溫水를 1:10으로 희석한다
- 2) 고운 카재로 10cc程度를 걸러서 遠心分離管에 넣는다
- 3) 2300 rpm으로 45-60秒間 遠心分離한 後에 上澄液을 버린다
- 4) 沈澱物에 2-3cc의 물을 加하고 희석한 後에 다시 물로 管口까지 채운다
- 5) 第3과 第4의 處理를 上澄液이 맑아질때까지 反復한다
- 6) 最後의 上澄液을 버리고 沈澱物에 硫酸亞鉛飽和 水溶液을 3-4cc程度 加하고 混合시킨 後에 계속하여 管口까지 채운다
- 7) 高速度로 45-60秒間 遠心分離한다
- 8) 液體의 表面에서 Loop(鐵輪)로 4-6번 表面液을 찌거 슬라이드에 옮겨 커버그래스를 덮고 檢査한다 이 檢査液에 Antoni iodine染色을 加한후에 커버그래스를 덮어도 좋다

Gracia와 Pesigan諸氏는(21) 硫酸亞鉛液 대신에 Cupric nitrate液을 使用했으며 Summers氏는(45) 카재로 걸르는것과 第二次 水洗(第5의 處理)를 하지 않았다

Baroody氏는(3) 이 방법과 물遠心分離法을 併合하여 使用했으며 또한 카재로 걸르는것을 除去했으며 그리고 커버그래스의 一面에 Mayer氏의 卵蛋白을 바르고 그것을 檢査管의 表面液에 接觸 시켜서 그곳에 떠있을 卵卵과 囊子를 커버그래스에 붙제한 後 슬라이드에 어퍼서 檢査하였다

“駐” ()內的 數字는 參考文獻番號인